Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg
Direktor: Prof. Dr. K. Kochsiek

Der Einfluß essentieller Aminosäuren im Vergleich zu Keto- und Hydroxyanaloga auf Protein- und Glykogenstoffwechsel der Leber und Skelettmuskulatur akut urämischer Ratten

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Maximilian Link
aus Schweinfurt

Würzburg, den 18. Nov. 1980

1981

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg
Direktor: Prof. Dr. K. Kochsiek

Der Einfluß essentieller Aminosäuren im Vergleich zu Keto- und Hydroxyanaloga auf Protein- und Glykogenstoffwechsel der Leber und Skelettmuskulatur akut urämischer Ratten

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Maximilian Link
aus Schweinfurt

Würzburg, den 18. Nov. 1980

Referent:	Prof. Dr. A. Heidland
Korreferent:	Prof. Dr. K. Kochsiek
Dekan:	Prof. Dr. K.-H. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 27.2.1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG	1
	1.1. Definition der Urämie	1
	1.2. Pathogenese der Urämie	3
	1.3. Auswirkungen der Urämie auf den Protein-, Glukose- und Glykogenstoffwechsel	5
	1.4. Zielsetzung der Arbeit	10
2.	METHODIK	12
	2.1. Tierexperimenteller Teil	12
	2.2. Analytischer Teil	15
3.	ERGEBNISSE	19
	3.1. Einfluß der verschiedenen Diäten auf die Überlebensrate akut urämischer Ratten	20
	3.2. Einfluß der verschiedenen Diäten auf das Körpergewicht, Harnstoff-N, Kreatinin, Natrium, Kalium und Blutzucker	20
	3.3. Ergebnisse der Organanalysen	31
4.	DISKUSSION	59
5.	ZUSAMMENFASSUNG	63
6.	LITERATURVERZEICHNIS	64

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543519_0023

1. EINLEITUNG

1.1. Definition der Urämie

Der klinische Begriff Urämie (Harnstoff im Blut) stammt von Piorry und L' Héritier (41) aus dem Jahr 1840 und bezeichnet ein komplexes Krankheitsbild, dem die Retention harnpflichtiger Substanzen im Organismus, Störungen des inneren Milieus und eine bestimmte Symptomatologie (Tab. 1) zugrunde liegen (5).

In allen Fällen kann man ein Ansteigen des Reststickstoffs, des Harnstoffs, der Harnsäure, des Kreatinins, des Phosphats, des Sulfats, der organischen Säuren, des Kaliums und des Magnesiums sowie den Abfall des pH und des Bikarbonats im Serum beobachten (50).

Einen Überblick über die klinischen Symptome des Urämiesyndroms bietet Tabelle 1 (nach Hans Sarre, Nierenkrankheiten, 1970).

Tab. 1 : Symptome des Urämiesyndroms

Zentralnervensystem:	Motorische Unruhe, Verlangsamung, Verwirrtheit, symptom. Parkinson-Syndrom, Koma, zuweilen Hirnödem mit eklamptischen Krämpfen
Periphere Nerven:	Polyneuritis
Gelenke:	Arthritis, Pseudogichtanfälle
Magen-Darm-Kanal:	Anorexie, Nausea, Foetor urämicus, Stomatitis, Pharyngitis, Gastritis, Enterokolitis, Erbrechen, Diarrhöe
Lungen:	Kußmaulatmung (selten), Flüssigkeitslunge, Lungenödem, Pleuritis
Herz:	Perikarditis
Haut:	Schmutziggelbe Blässe, Urämide, Pruritus, Purpura
Blut:	Anämie, Leukozytose, hämorrhagische Diathese
Knochen:	Renale Osteopathie

1.2. Pathogenese der Urämie

1.2.1. Urämietoxine

Die Erfolge der Dialysebehandlung und der Nachweis der Toxizität des Serums und des Dialysats urämischer Patienten lassen auf die Existenz niedermolekularer Urämietoxine schließen (30). Neben Harnstoff wurden Kreatinin, Harnsäure, Hippursäure, Sulfate, Phosphate, Chloride, Leucin, Tyrosin, aromatische Oxysäuren, Guanidinderivate (9, 26, 50) und Phenolabkömmlinge (30) als potentielle Urämietoxine diskutiert.

Kreatinin und Harnstoff sind zwar gute Indikatoren für die Schwere der Urämie, scheinen aber als Urämiegifte nur von untergeordneter Bedeutung zu sein. Giovanetti et al. (26) konnten aber zeigen, daß Kreatinin die in-vitro-Autohämolyse normaler menschlicher Blutzellen verstärkt.

Merril und Mitarbeiter (36) konnten zeigen, daß Harnstoff das urämische Koma nicht auslöst. Bei chronisch urämischen Patienten verschwanden während der Dialyse die urämischen Symptome, obwohl durch eine harnstoffhaltige Dialyselösung der Abfall des Harnstoffs im Blut verhindert wurde.
Welche Urämietoxine das urämische Koma nun wirklich auslösen, ist bis heute noch ungeklärt. Die Metaboliten des Proteinstoffwechsels und vor allen Methylguanidin spielen dabei sicherlich die entscheidende Rolle.

1.2.2. Die Serumelektrolyte

Durch den totalen Zusammenbruch der renalen Elektrolytregulation kommt es zu Ionenverteilungsstörungen, die vor allem das Magnesium, Natrium und Kalium betreffen. Die Hyperkaliämie ist bei der durch eine akute Niereninsuffizienz ausgelösten Urämie die gefährlichste Elektrolytstörung. Bei einem Serumkaliumspiegel über 6 mval/l ist mit kardiotoxischen Erscheinungen zu rechnen, letale Werte sind bei 9 mval/l erreicht.

Bei einem hyperkatabolen akuten Nierenversagen beträgt der Eiweißabbau häufig 150 - 200 g/die, was bedeutet, daß etwa 60 - 80 mval Kalium pro Tag zusätzlich anfallen (50). Da fast immer eine Azidose vorliegt, die das Ionengleichgewicht beträchtlich stört, tritt die Intoxikation noch schneller ein.

1.2.3. Azidose

In der Regel liegt bei der akuten Urämie eine metabolische Azidose vor. Sie entsteht durch ein Mißverhältnis von Säureproduktion (Metabolite) und der Nettoausscheidung von Säure im Urin (Urinammoniak + titrierbare Säure bis pH 7,4 - Bikarbonat).
Wie oben schon erwähnt, hat die Azidose Rückwirkungen auf den Kaliumspiegel. Scribner et al. (51) fanden, daß bei sonst konstanten Voraussetzungen das Absinken des pH von 0,1 Einheiten den Kaliumspiegel um 0,4 - 1,2 mval/l erhöht. Der Einfluß der Azidose auf die verschiedenen Enzymsysteme ist infolge der pH-abhängigen Reaktionen unbestritten.

Nach einer Hypothese von Thölen und Bigler (57) bewirken Azidose, Anämie, Elektrolytverschiebungen und Urämietoxine gemeinsam eine Störung des oxidativen Abbaus von Pyruvat zu Acetyl-Coenzym A und damit einen Mangel an energiereichem Phosphat. Den Störungen des Glykogenstoffwechsels kommt deshalb eine besondere Bedeutung zu.

1.3. Auswirkungen der Urämie auf den Protein-, Glykose- und Glykogenstoffwechsel

1.3.1. Proteinstoffwechsel

Bei der durch eine akute Niereninsuffizienz ausgelösten Urämie liegt eine katabole Stoffwechsellage vor. Der tägliche Eiweißabbau erreicht in hyperkatabolen Fällen bis zu 200 g. Der Energiebedarf steigt auf 50 - 70 kcal/kg/24h (45). Bis zum heutigen Tag ist es jedoch nicht gelungen, diesen Katabolismus zu durchbrechen.

Urämische Patienten zeigen häufig eine Glukoseverwertungsstörung (9, 10, 12, 14, 55). Um die für den Organismus lebenswichtige Energievorräte an Glukose und Glykogen wieder aufzufüllen, werden glukoplastische Aminosäuren verstoffwechselt. Dies geht anfangs auf Kosten der Plasmaproteine. Da ihre Gesamtmenge mit 150 g nur gering ist, werden sehr schnell auch lebenswichtige Enzymsysteme der Leber, des Darms und des Pankreas betroffen (32). Dies verschlechtert die Stoffwechselsituation noch mehr. Die größte Proteinreserve des Körpers, die Skelettmuskulatur, wird geradezu in einer dramatischen Weise abgebaut.

1.3.2. Glukose und Glykogenstoffwechsel

Die Veränderungen des Kohlenhydratstoffwechsels in der Urämie sind vielfältig. Ein Schema der Aktivierung und Inaktivierung der Glykogenphosphorylase und -synthetase zeigt die Abbildung 1.

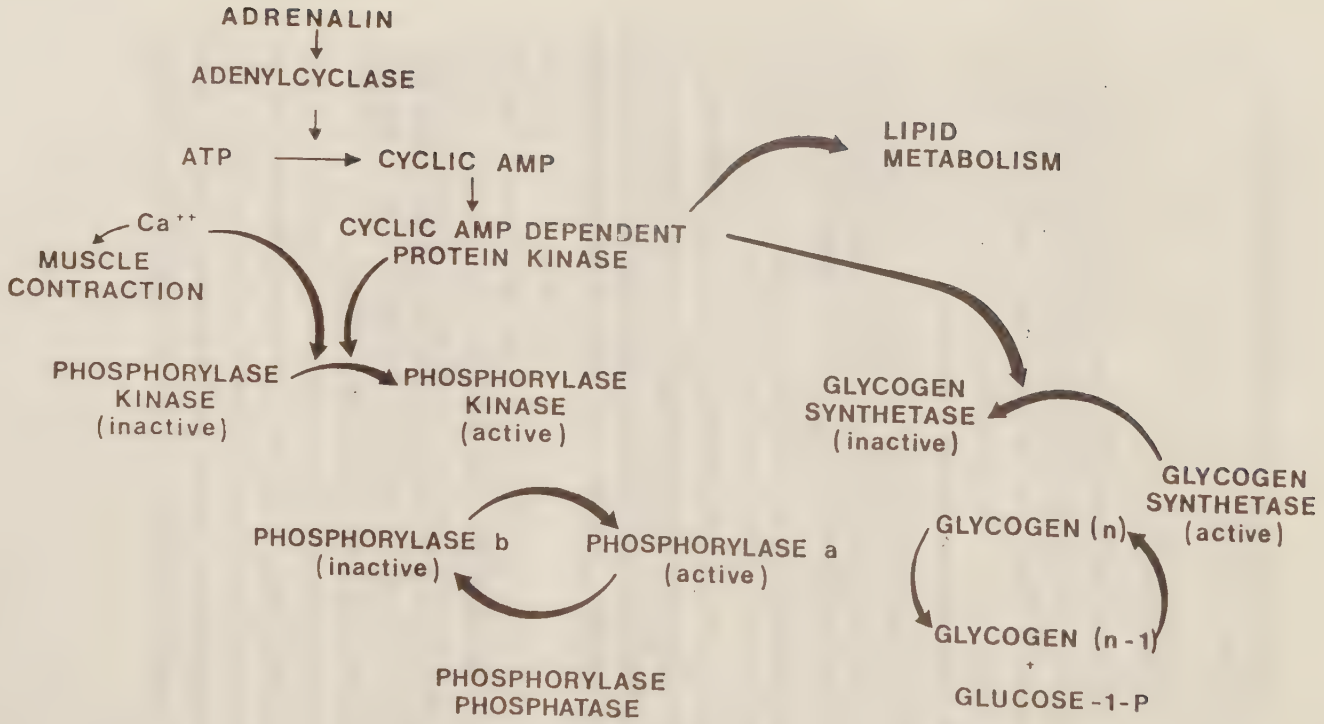

Abbildung 1:

Schema der Aktivierung und Inaktivierung der Glykogenphosphorylase und -synthetase im Glykogenstoffwechsel

1.3.2.1. Urämie und Insulinantagonismus

Die Aufnahme von Glukose und Glukose-6-P in die Zelle wird durch Insulin gesteigert (34). Es wird die Hypothese vertreten, daß in der Urämie ein Insulinantagonismus vorliegen soll (67). Intravenöse Insulininfusionen senken bei urämischen Versuchstieren den Blutzuckerspiegel geringer als bei Kontrolltieren (68, 69).

Der Insulinspiegel soll auch bei normalen Glukosespiegel nach Hungern erhöht sein (11, 53).

Westervelt et al. (68) fanden bei Versuchen mit intraarteriellen Insulininfusionen, daß die Aufnahme von Glukose und Phosphat in den Muskel bei Urämie deutlich abgeschwächt auf Insulin reagiert.

Swenson et al. (55) zeigten, daß die Urämie zu einer Glukoseintoleranz führt, die sich letztlich aus einem Insulinantagonismus herleitet. Dzurik (14) inkubierte Rattendiaphragmen in dem Serum von urämischen Patienten. Die Glukoseutilisierung war dabei signifikant geringer, als bei den Kontrollen, die mit normalem Serum inkubiert waren.

Cohen (9) dagegen fand bei 21 urämischen Patienten, bei denen er die ersten 30 min den Blutzuckerspiegel bestimmte, eine normale Insulintoleranz.

1.3.2.2. Urämie und Glykogensynthese

Glukose wird im Körper kurzfristig reversibel vor allem in der Leber und den Muskeln als Glykogen gespeichert.

Dzurik und Brixová (13) berichten, daß bei chronischer Urämie, das Leberglykogen normal sei. Spitz (53) fand bei Niereninsuffizienten eine normale Reaktion auf Glukagon.

Bergström (3) stellte bei chronisch-urämischen Patienten einen normalen Gehalt an Muskelglykogen fest. Dagegen war das Muskelglykogen bei akut urämischen Patienten signifikant erniedrigt. Cohen (9) fand einen erniedrigten Glykogengehalt der Leber bei urämischen Ratten.

Ein Ziel dieser Arbeit war es, diese Widersprüche über den Abbau von Muskel- und Leberglykogen zu untersuchen und eine Beeinflußbarkeit des Glykogenstoffwechsels durch essentielle Amino- und Ketosäuren zu prüfen.

1.3.2.3. Urämie und Glykolyse

Die Umwandlung von Glukose-6-P zu Pyruvat in der Glykolyse und das Zusammenspiel von Laktat und Pyruvat, das durch die Laktatdehydrogenase ermöglicht wird, haben zentrale Bedeutung im Kohlenhydratstoffwechsel.

Galloway und Morgen (22) fanden bei urämischen Patienten im Hungerzustand einen doppelt so hohen Pyruvatspiegel im Vergleich zu Gesunden. Fröhlich (19) berichtet von Pyruvatverwertungsstörungen in der Urämie. De Fronzo et al. (11) entdeckten, daß das Ultrafiltrat von urämischen Patientenserum die Laktatdehydrogenase hemmt. Westervelt (69) stellte dagegen fest, daß die Bildung von Laktat der Aufnahme von Glukose auch bei Urämikern proportional ist. Umgekehrt gibt es keinen signifikanten Unterschied bei der Umwandlung von Pyruvat zu Laktat gegenüber Gesunden. Da die Laktataufnahme in die Zelle bei Urämie vermindert ist, kann daraus geschlossen werden, daß auch die Glukoseaufnahme vermindert sein muß.

1.3.4. Zitronensäurezyklus

Im Zitronensäurezyklus wird auf oxidative Weise Pyruvat, nach seiner Umwandlung zu Acetyl-Coenzym A, vollständig zu CO_2 und Wasser verstoffwechselt. Die dabei entstandene Energie wird in Form von Adenosintriphosphat gebunden.

Cummings und Zotter (10) untersuchten Leberschnitte von chronisch urämischen Tieren. Sie konnten dabei keine Veränderung des Pyruvat- und Glukosestoffwechsel feststellen. Campannacci et al. (7) fanden dagegen,

daß bei urämischen Patienten die Toleranz gegenüber Pyruvat signifikant vermindert war. In Verbindung mit der verminderten Keto-Gluterat-Konzentration nahmen die Autoren eine Störung im Zitronesäurezyklus an.

Wie wir aus diesem Überblick erkennen, sind die Störungen des Kohlenhydratstoffwechsels in der Urämie vielfältig. Wenn wir auf diese Stoffwechselsituation Einfluß nehmen wollen, so gibt es für uns nur zwei Möglichkeiten:

1. Die Dialyse, durch die wir die Plasmakonzentration toxischer Substanzen senken. Dabei stehen wir auch heute noch vor dem Problem, welche Bestandteile denn dem Serum entzogen werden sollen und welche nicht.

2. Die Diät, indem wir die Zufuhr potentiell toxischer Substanzen unterbinden und, wenn möglich, die Zufuhr anaboler Stoffe steigern, um diesen katabolen Stoffwechselprozeß zu durchbrechen.

1.4. Zielsetzung dieser Arbeit

Ziel der Arbeit war es, den Wert einer neuen, vielversprechenden diätischen Therapie in der akuten Urämie, stellvertretend für eine hyperkatabole Stoffwechselsituation, zu untersuchen. Um die Zufuhr harnpflichtiger Substanzen zu reduzieren, wurden schon seit Jahrzehnten eiweißarme Diäten verwendet. Wegen dieser Mangelernährung verstärkten sich dabei aber leider viele andere Symptome der Urämie.

Giordano (25) und Giovanetti und Maggiore (27) verbesserten diese Diätform entschieden dadurch, daß sie biologisch hochwertiges Protein für die eiweißarme Diät verwendeten.

Röckel et al. (46) fügten einer gemischten eiweißarmen Diät essentiellen Aminosäuren hinzu und verglichen sie mit der gewöhnlichen Kartoffel-Ei-Diät. Dabei zeigte sich, daß die Patienten der gemischten Eiweißdiät den Vorzug gaben.
Gemeinsam ist allen diesen Diäten, daß die Zufuhr harnstoffpflichtiger Substanzen dennoch erhöht wird. Walser et al. (60-66) verwendeten als Erster bei Urämie eine Mischung aus 4 Ketoanaloga essentieller Aminosäuren, dazu DL-Hydroxy-Methionin und vier andere essentielle Aminosäuren.

Tabelle 2: Walser-Mischung (62):

	Menge (g)	Menge des Stickst. (g)
Keto-Valin (Ca-Salz)	2.88	0.00
Keto-Leucin (Ca-Salz)	4.00	0.00
Keto-Isoleucin (Ca-Salz)	2.92	0.00
Hydroxy-methionin (Ca-Salz)	2.12	0.00
Phenyl-Alanin (Ca-Salz)	2.00	0.00
L-Threonin	0.67	0.08
L-Lysin monohydrochlorid	0.80	0.12
L-Tryptophan	0.33	0.04
L-Histidin	0.54	0.15
Total	16.26	0.39

Der Vorteil dieser Therapie liegt darin, daß es gelingt, die Stickstoffbilanz zu verbessern, ohne die harnpflichtige Substanzen zu erhöhen.

Giordano, Richards und Chow (8, 25, 44) zeigten, daß Ketoanaloga von Aminosäuren auch in der Urämie in Leber, Muskel und Darm zu Aminosäuren umgesetzt werden können. Damit ergibt sich die Möglichkeit, entscheidend in den Proteinstoffwechsel und über die glukoplastischen Aminosäuren auch in den Kohlenhydratstoffwechsel einzugreifen und die katabole Stoffwechsellage günstig zu beeinflussen. Gerade wegen der Glukoseintoleranz des Urämikers eignen sich die glukoplastischen Aminosäuren besonders gut, die Energiezufuhr für den Körper zu verbessern.

In dieser Arbeit sollte deshalb der Effekt von Keto- und Hydroxyanaloga von Aminosäuren gegenüber essentiellen Aminosäuren in Kombination mit einer hochkalorischen eiweißarmen, kohlenhydratreichen Basisdiät auf den Glykogen- und Proteinstoffwechsel von Leber und Skelettmuskulatur bei akuter Urämie untersucht werden.
Gleichzeitig sollte deren Einfluß auf die Überlebenszeit der Ratten nach Binephrektomie geprüft werden.

2. METHODIK

2.1. Tierexperimenteller Teil

Die Untersuchungen wurden an gesunden weiblichen Sprague-Dawley-Ratten der Firma Gassner, Sulzfeld, durchgeführt.
Das Gewicht der Tiere lag in der Regel zwischen 230 und 250 g. Vor dem Versuch erhielten die Tiere Trockenfutter (Altromin^{R}) und Wasser ad libitum, nach der Operation nur die angegebene Diät. Vor jeder Operation wurde das Gewicht der Tiere festgestellt. Anästhesiert wurde mit Äther. Um eine experimentelle akute Urämie zu erzeugen, wurde eine bilaterale Nephrektomie durchgeführt. Das Fell der Tiere wurde dorsal in der Mittellinie über der Wirbelsäule inzidiert. Die Muskelschicht über jeder Niere wurde durchtrennt und die Nieren freigelegt. Um die Nebennieren zu schonen, wurden sie mit der Nierenkapsel vorsichtig abgestreift. Der Ureter, sowie die A. und V. renalis wurden gemeinsam am Nierensinus doppelt abgebunden und durchtrennt. Die Nieren wurden entfernt, die Muskelschnitte mit Histoacrylgewebekleber verschlossen und die Fellwunde wurde mit Wundklammern zusammengeheftet.

Sämtliche Tiere des Versuchs wurden binephrektomiert. Als Kontrollgruppe für die Wirkung der verschiedenen Diäten bekam eine Gruppe der binephrektomierten Tiere weder Wasser noch Futter. Für jeden späteren Meßpunkt des Versuchs und für jede Diätform wurden fünf bis zehn Tiere als eine Gruppe zusammengefaßt. Dies sollte ausreichen, eine vernünftige statistische Aussage machen zu können.

30 Minuten nach der Operation wurden die Tiere zum erstenmal mit der entsprechenden Diät gefüttert. Anschließend bekamen die Tiere alle 8 Std. ihre Diät. Zur Fütterung wurde eine Magensonde verwendet.

Folgende Diätformen wurden verfüttert:

a) Die Kontrollgruppen bekamen weder Futter noch Wasser. Diese Tiere wurden alle 8 Stunden aus experimentellen Gründen (gleicher Streß) mit der Magensonde zum Schein gefüttert.

b) Eine Suspension aus gemischter proteinarmer Basisdiät (Berodiät der Firma Boeringer Mannheim) der Zusammensetzung: 33,4 g Kohlenhydrat, 11,4 g Fett, 0,7 g Protein, 1,7 mg Vit-E-acetat. Bei jeder Fütterung bekam ein Tier 0,53 g Berodiät auf 1 ml Wasser. Dies entspricht 35-40 kcal pro kg pro 24 Std.

- 1,6 g proteinarme Basisdiät/ 1 Ratte/ 24 Stunden
- 3 ml Wasser/ 1 Ratte/ 24 Stunden

c) Eine Suspension aus proteinarmer Basisdiät (siehe b) und ein in der Klinik üblicherweise verwendetes Gemisch aus essentiellen Aminosäuren (Fa. J. Pfrimmer, Erlangen)

- 1,6 g proteinarme Basisdiät/ 1 Ratte/ 24 Stunden
- 0,12 g essentielle Aminosäuren/ 1 Ratte/ 24 Stunden
- 2 ml Wasser/ 1 Ratte/ 24 Stunden
- 2 ml 1 %ige Methylcellulose-Lösung/ 1 Ratte/ 24 Stunden

d) Eine Suspension aus proteinarmer Basisdiät (siehe b) und einer Mischung aus 4 Ketoanalogen von Aminosäuren + DL-Hydroxy-Methionin + 4 essentiellen Aminosäuren (Walsermischung, Fa. J. Pfrimmer Erlangen) und zur Sicherstellung der Transaminierung Vitamin B 6 (Fa. Merck, Darmstadt).

Zusammensetzung der Walsermischung:

2,8 g	Keto-Isoleucin (Ca-Salz)
3,5 g	Keto-Leucin (Ca-Salz)
3,7 g	Keto-Valin (Ca-Salz)
1,9 g	Keto-Phenylalanin (Ca-Salz)
2,1 g	Hydroxy-Methinon (Ca-Salz)
0,54 g	L-Histidin
0,90 g	L-Lysinmonoacetat
0,67 g	L-Threonin
0,33 g	L-Tryptophan

Diese Aminosäuren und die Kohlenstoffgerüste der Ketosäuren sind für die Ratte essentiell.

- 1,6 g proteinarme Basisdiät/ 1 Ratte/ 24 Stunden
- 0,12 g Walsermischung/ 1 Ratte/ 24 Stunden
- 0,06 mg Vitamin B 6/ 1 Ratte/ 24 Stunden
- 2 ml Wasser/ 1 Ratte/ 24 Stunden
- 2 ml 1%ige Methylcellulose-Lösung/ 1 Ratte/ 24 Stunden

Vitamin B 6 ist ein notwendiger Co-faktor für die Transaminierung (15). Von Gäng et al. (21) wurde über einen Vitamin B 6-Mangel in der Urämie berichtet, deshalb wurde dieses Vitamin substituiert.

Im Abstand von 6 Stunden wurde ab der 60. Stunde jeweils eine Gruppe der Tiere mit einer Überdosis Äther narkotisiert. Mit einem heparinisierten Röhrchen wurde Blut aus dem retroorbitalem Venenplexus zur Bestimmung von Blutzucker, Harnstoff, Kreatinin, Natrium und Kalium entnommen. Die Ratten wurden gewogen, nach Tötung wurden Herz, Leber und Oberschenkelmuskulatur entnommen, sofort auf Eis gelegt und dann in einem Reagenzröhrchen bei -30 C eingefroren.

2.2. Analytischer Teil

2.2.1. Blutzucker, Harnstoff, Kreatinin, Natrium und Kalium wurden im Serum mittels Routinemethoden (Antoanalyzer) bestimmt.

2.2.2. Protein, Glykogen und Enzymaktivität der Organe

1. Herstellung des Rohextrakts

Die gefrorenen Organe wurden mit dem zweieinhalbfachen Gewichtsvolumen an 4 mM EDTA bei pH 7.0 und 4^{o} C versetzt und 15 Sekunden homogenisiert. Das Homogenat wurde 10 Minuten lang bei 15.000 rpm unter Kühlung bei 0^{o} C zentrifugiert.

Kohlenhydrat und Proteingehalt sowie Enzymaktivitäten wurden aus dem Überstand (= Rohextrakt) bestimmt.

2. Biochemische Analyse

a) Proteinbestimmung nach Lowry et al., 1951 (35)

Reagention:

Lösung A: 2 % Na_2CO_3 in 0,1 N NaOH

Lösung B: 0,5 % $CuSO_4$ x 5 H_2O

Lösung C: 1 % Natrium-Kalium-Tartrat

Lösung D: 18 ml Lösung A werden mit 1 ml Lösung C vermischt, gut geschüttelt und dann erst mit 1 ml Lösung B versetzt.

Lösung E: Folin-Reagenz, 1 : 2 mit aqua dest. verdünnt

Durchführung:

Zur Messung wurde der Rohextrakt mit aqua dest. verdünnt (Leber 1 : 200, Muskel 1 : 100). 0,5 ml des verdünnten Rohextrakts wurden mit 5 ml Lösung D vermischt, nach genau 10 Minuten wurde die Lösung E dazupipetiert und sofort vermischt. Nach weiteren 10 Minuten wurde bei einer Wellenlänge von 578 nm photometriert. Eine Eichkurve wurde mit Hilfe von Rinderserumalbumin in einer Konzentration von 50 - 500 ug/ml erstellt. Alle aus der Extinktion errechneten Werte beziehen sich auf 1 ml Rohextrakt.

b) Glykogenbestimmung nach Montgomery, 1957 (38)

Reagenzien:

50 % Trichloressigsäure (TCA)

96 % Äthanol

40 % Phenol

konz. H_2SO_4

Durchführung:

1. Denaturierung:

0,9 ml Rohextrakt werden mit 0,1 ml 50 % Trichloressigsäure versetzt und dann bei $4^{o}C$ 10 min lang inkubiert. Das denaturierte Eiweiß wird in einer Tischzentrifuge bei maximaler Umdrehung abzentrifugiert (10 Minuten).

2. Äthanolfällung

Der Überstand wird mit 2,2 ml 96 % Äthanol versetzt (Endkonzentration des Äthanols 66 %), mehrmals kräftig geschüttelt und bei $4^{o}C$ 10 min lang inkubiert.

Das ausgefallene Glykogen wird in der Tischzentrifuge bei maximaler Umdrehung 15 Minuten lang abzentrifugiert. Der Überstand wird verworfen.
Der Niederschlag wird in 2 ml aqua dest. aufgenommen.

3. Nachweis des Glykogen:

Nachdem das Glykogen sich wieder vollständig in Wasser gelöst hat, werden 0,2 ml 40 % Phenolsuspension und 5 ml konzentrierte Schwefelsäure dazugegeben und sofort kräftig geschüttelt.
Nach 30 Minuten wird bei 492 nm die Extinktion der Proben im Photometer abgelesen. Eine Eichkurve für die Glykogenbestimmung wird in einer Konzentration von 20 - 100 ug/ml erstellt.

c) Gesamtkohlenhydratbestimmung

Gegenüber der Glykogenbestimmung entfällt die Äthanolfällung des Glykogens. Der Nachweis ist ansonsten identisch mit b.

d) Bestimmung der Glykogensynthetase
Thomas et al. (1968) (58)

Reagenzien:

1. 3,75 mmol ^{3}H-UDP-Glukose
(21,2 mg UDP-Glukose auf 10 ml aqua dest. U. 0,1 ml ^{3}H-UDP-Glukose)

2. Stammlösung zur Bestimmung der D und I-Form der Glykogensynthetase

4 ml 10 % Glykogen
4 ml 0,625 M Tris/HCl, 0,0125 M EDTA,
0,156 M Mg Cl_2, pH 7,6
2 ml 0,0625 M Glukose-6-Phosphat

3. Stammlösung zur Bestimmung der I-Form der Glykogensynthetase

4 ml 10 % Glykogen
4 ml 0,625 M Tris/HCl, 0,0125 M EDTA,
0,156 m $MgCl_2$, pH 7,6
2 ml aqua dest.

Durchführung:

100 ml ^{3}H-UDP-Glukose werden mit 50 ul Probe und 20 µl Stammlösung 2 bzw. 3 bei 30°C inkubiert. Nach 30 Minuten wird jeweils ein aliquot von 50 µl auf ein Whatman-Filterplättchen gegeben. Anschließend werden die Plättchen für 20 Minuten in 66 % Äthanol getaucht (0°C). Danach werden die Plättchen für 10 Minuten in frischer Äthanollösung und 5 Minuten in Aceton inkubiert. Nach dem Trocknen werden sie in Szintillationsgläschen gegeben und mit je 5 ml Rotiszent 11 (Fa. Roth) versetzt.
Der Leerwert (cpm_o) wird durch ein leeres Filterplättchen in der Badeflüssigkeit ermittelt, der Totalwert (cpm_{total}) entspricht 50 ul ^{3}H-UDP-Glukose auf einem Filterplättchen.

Die Synthetaseaktivität wird in umgesetzten Mol Glukose pro Minute gemessen und als Einheiten pro mg Protein angegeben.

$$U / min / mg = \frac{cpm\ (Probe) \times 187,5 \times 20}{3 \times cpm_{(total)} \times mg/ml\ Protein}$$

3. ERGEBNISSE

Für jede Diätform und für jeden Untersuchungszeitpunkt wurden Gruppen von je 5 - 10 Tieren verwendet. Wenn die Anzahl der untersuchten Tiere niedriger angegeben wird, so kommt das daher, daß einige Tiere aus der Gruppe zu dem Zeitpunkt der Untersuchung schon verstorben waren. Bei der Kontrollgruppe (Nüchterntiere) und bei der Verfütterung des Walser-Gemisches wurden die Untersuchungen jeweils an 10 Tieren je Gruppe vorgenommen.

In einer vergleichenden Untersuchungsreihe hatten wir versucht, die Kalium-Spiegel durch Acetolytgabe zu senken. Da dies aber nicht sicher gelang und sich auch keine Auswirkungen auf die von uns untersuchten Stoffwechselparameter ergaben, haben wir die Gruppen mit und ohne Acetolyt für die Auswertung zusammengefaßt.

Im folgenden Teil werden die Tiergruppen nur noch mit Symbolen bezeichnet werden.

Erläuterung:

Das Symbol K 662 steht zum Beispiel für das Versuchstier, das das Keto-Säuren-Gemisch nach Walser als Diät bekamen. Nach 66 Stunden wurde es getötet und die entsprechenden Analysen vorgenommen.
Die 2 am Ende der Zahl bedeutet, daß es das 2. Versuchstier aus der Gruppe war.

N = Nulldiät
B = proteinarme Basisdiät
E = proteinarme Basisdiät mit essentiellen Aminosäuren
K = proteinarme Basisdiät mit Keto- und Hydroxyanaloga (Walsergemisch)

Die genaue Zusammensetzung der Diätformen ist im Methodenteil angegeben.

3.1. Einfluß der verschiedenen Diäten auf die Überlebensrate akut urämischer Ratten

Die erhobenen Befunde sind in Abb. 2 wiedergegeben.

Bis zur 72. Stunde nach Binephrektomie überlebten alle Versuchstiere, gleichgültig ob die verschiedenen Diäten an sie verfüttert wurden oder die Ratten nüchtern waren. In den nächsten 6 Stunden verstarben sämtliche Tiere der Kontrollgruppe, die Nulldiät bekamen. Eine überraschend hohe Absterbequote hatten auch die Tiere der Gruppe, die eine proteinarme Basisdiät in Kombination mit essentiellen Aminosäuren erhielten. Diese Diätform erwies sich hinsichtlich der Überlebensrate nicht besser als die proteinarme Basisdiät allein. Zwischen der 78. und der 84. Stunde verstarben alle Ratten mit proteinarmer Basisdiät allein oder in Kombination mit essentiellen Aminosäuren. Von den Tieren, die zur proteinarmen Basisdiät das Walsergemisch bekamen, überlebten dagegen 80 % die 84. Stunde nach Binephrektomie, 10 % überlebten sogar 90 Stunden.

3.2. Einfluß der verschiedenen Diäten auf das Körpergewicht, Harnstoff-N, Kreatinin, Natrium, Kalium und Blutzucker

3.2.1. Veränderung des Körpergewichts

Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt. Da alle Tiere bilateral nephrektomiert wurden und deshalb keine renale Flüssigkeitsausscheidung möglich war, sind die Gewichtsverluste trotz der hyperkatabolen Stoffwechsellage relativ gering (zwischen 5,4 % und 11,4 %). Die Kontrollgruppe mit Nulldiät verlor am stärksten an Gewicht (bis zu 11,4 % nach 72 h). Es zeigte sich ebenso wie bei der Überlebensrate, daß die Tiere mit proteinarmer Basisdiät in Kombination mit essentiellen Aminosäuren, überraschend schlechte Werte erzielten (mit 8,9 % die höchste prozentuale Gewichtsabnahme von allen Gruppen bei 60 Stunden, maximal bis zu 10,7 % 72 Stunden nach Binephrektomie).

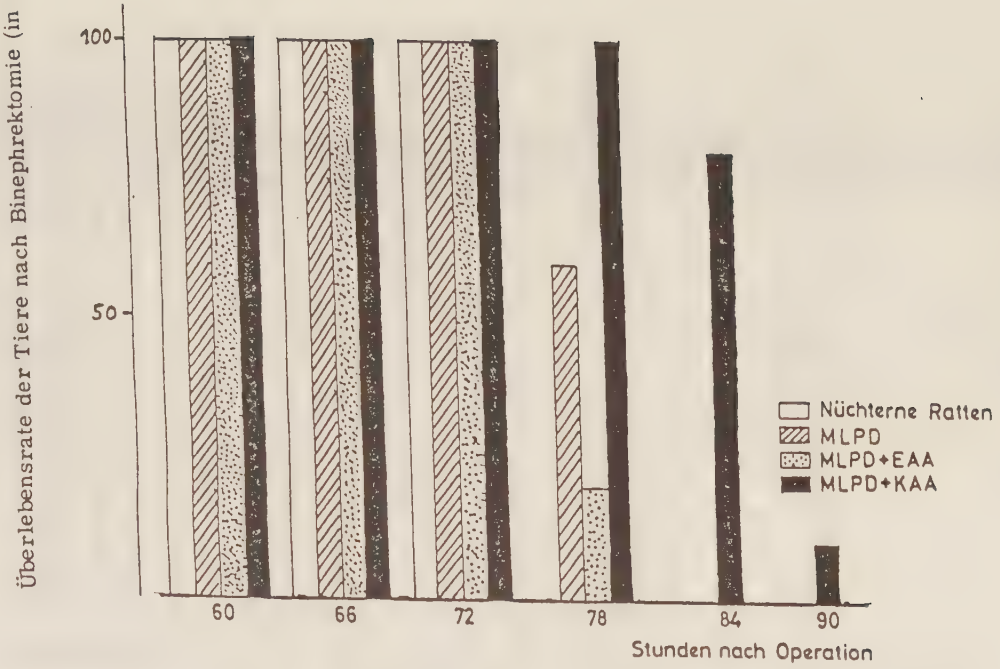

Abbildung 2:
Prozentuale Überlebensrate nach Binephrektomie bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit proteinarmer Diät (MLPD), essentiellen Aminosäuren (MLPD + EAA) und Ketosäuren nach Walser (MLPD + KAA)

Stunden nach Binephrektomie	60 h	66 h	72 h	78 h	84 h	90 h
Diät: N	15 ± 4,3	23 ± 5,4	30 ± 6,8	-	-	-
(n = 10)	5,9 %	8,9 %	11,4 %			
Diät: B	14 ± 4,5	13 ± 3,7	19 ± 3,0	21 ± 3,4	-	-
(n = 5)	5,7 %	5,4 %	7,5 %	8,2 %		
Diät: E	22 ± 3,8	20 ± 2,8	28 ± 2,6	27		
(n = 5)	8,9 %	8,0 %	10,7 %	10,0 %	-	-
Diät: K	14 ± 2,5	17 ± 4,8	19 ± 3,3	20 ± 3,9	22 ± 3,8	27
(n = 10)	5,5 %	6,5 %	7,1 %	7,6 %	8,3 %	10,3 %

Tabelle 1:
Prozentuale und absolute Gewichtsabnahme (in g) bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit proteinarmer Diät (B), essentiellen Aminosäuren (E) und Ketosäuren nach Walser (K) nach Binephrektomie (Mittelwerte ± SD)

Die Gruppe mit der proteinarmen Basisdiät allein und die mit der Walser-Mischung gefütterten Ratten erreichten wiederum die besten Ergebnisse: Nach 60 Stunden hatten sie nur 5,7 % bzw. 5,5 % ihres Körpergewichts verloren. Die Tiere mit dem Walsergemisch zeigten selbst nach 84 Stunden eine geringere Gewichtsabnahme (8,3 %) als die Tiere mit essentiellen Aminosäuren nach 60 Stunden (8,9 %).

3.2.2. Harnstoff-N

Abb. 3 zeigt die gewonnenen Daten.

Grundsätzlich beeinflussen zwei Stickstoffquellen bei akuter Niereninsuffizienz die Erhöhung des Harnstoff-N:

1. Exogen zugeführte Aminosäuren bzw. zugeführtes Eiweiß
2. Abbau von körpereigenem Protein

Die Kontrolltiere (Nulldiät) konnten nur körpereigenes Eiweiß zur Deckung des Energiebedarfs verstoffwechseln. Ihr Harnstoff-N stieg gleichmäßig von 397 mg/dl (60 Stunden) auf 477 mg/dl (72 Stunden). Bei den Tieren mit proteinarmer Basisdiät stieg der Harnstoff-N bei weitem am höchsten: Nach 60 Stunden lag er bei 439 mg/dl und erreichte nach 72 Stunden mit 518 mg/dl den höchsten aller gemessenen Werte. Die Applikation von essentiellen Aminosäuren zeigte dagegen eine anabole Wirkung: Obwohl dem Körper durch die Aminosäuren zusätzlich Stickstoff zugeführt wurde, blieb der Harnstoff-N zu allen Zeiten niedriger als bei der Kontrollgruppe.

Die wirksamste Diät jedoch, den Harnstoff-N im Serum niedrig zu halten, ist das Ketosäurengemisch nach Walser. Nach 60 Stunden sind im Mittel erst Harnstoff-N-Werte von 339 mg/dl erreicht im Vergleich zu 374 mg/dl in der Vergleichsgruppe mit essentiellen Aminosäuren bzw. 397 mg/dl unter Nulldiät oder 439 mg/dl unter Verfütterung der proteinarmen Basisdiät. Selbst 75 oder 84 Stunden nach Binephrektomie lagen unter Ketosäurengabe die Harnstoff-N-Werte noch immer unter den nach 66 Stunden unter proteinarmer Basisdiät gefundenen Konzentrationen.

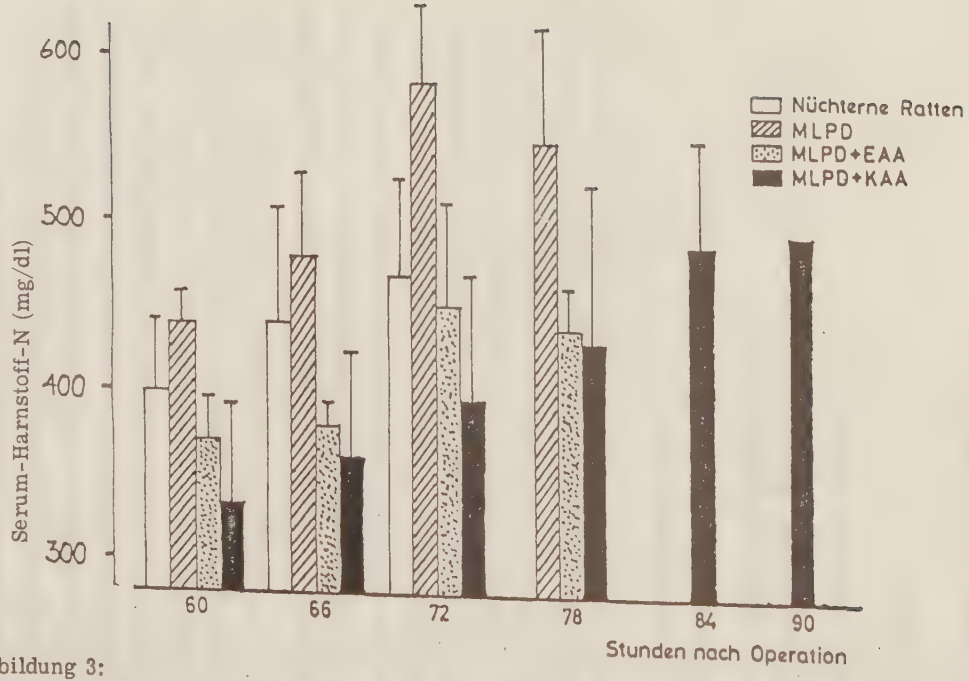

Abbildung 3:

Verhalten von Serum-Harnstoff-N (mg/dl) nach Binephrektomie bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit proteinarmer Diät (B), essentiellen Aminosäuren (E) und Ketosäuren nach Walser (K) (Mittelwerte $\pm$ SD)

3.2.3. Blutzuckerspiegel

Das Verhalten des Blutzuckers ist in Abb. 4 wiedergegeben.

Die Schwankung des Blutzuckerspiegels der Tiere in den einzelnen Versuchsgruppen waren teilweise recht groß (siehe Standartabweichung der Mittelwerte). Dies liegt sicher daran, daß manche Tiere sich in einem bereits präfinalem Zustand befanden. Wir fanden bei allen Tieren mit Zunahme der Niereninsuffizienz bis unmittelbar vor dem Exitus eine Hyperglykämie, bei einzelnen Ratten bis zu 600 mg/dl.

Mit dem Schweregrad der Urämie stieg der Blutzuckerspiegel selbst bei den Ratten mit Nulldiät bis auf 225 mg/dl im Mittel an. Wurde binephrektomierten Tieren eine kohlehydratreiche, proteinarme Basisdiät gefüttert, erreichte der Blutzuckerspiegel Werte bis zu 300 mg/dl im Mittel.

Unter proteinarmer Basisdiät allein und in Kombination mit Ketosäuren zeigt sich im Verlauf der Urämie, daß der Blutzuckerspiegel 6 - 12 Stunden vor dem Exitus die höchsten Werte erreicht und dann steil abfällt.

3.2.4. Serum-Kreatinin (vergl. Tab. 2)

Kreatinin stellt als rein endogener Stoffwechselmetabolit einen guten Indikator für den Schweregrad der Urämie dar. Zu den einzelnen untersuchten Zeitpunkten zeigte der Kreatininspiegel der verschiedenen Gruppen relativ geringe Unterschiede. Dies macht deutlich, daß das Serum-Kreatinin weitgehend unabhängig von der Art der Ernährung ist. Nach 60 Stunden wurde mit 9,6 mg/dl bei der Gruppe mit essentiellen Aminosäuren zwar der niedrigste und mit 11,5 mg/dl bei der Gruppe mit der Basisdiät der höchste Wert gemessen. Doch waren die Unterschiede nicht signifikant. Erwartungsgemäß fand sich der höchste Kreatininwert bei dem Tier, das unter Ketosäurengabe 90 Stunden nach Binephrektomie überlebt hatte (13,6 mg/dl).

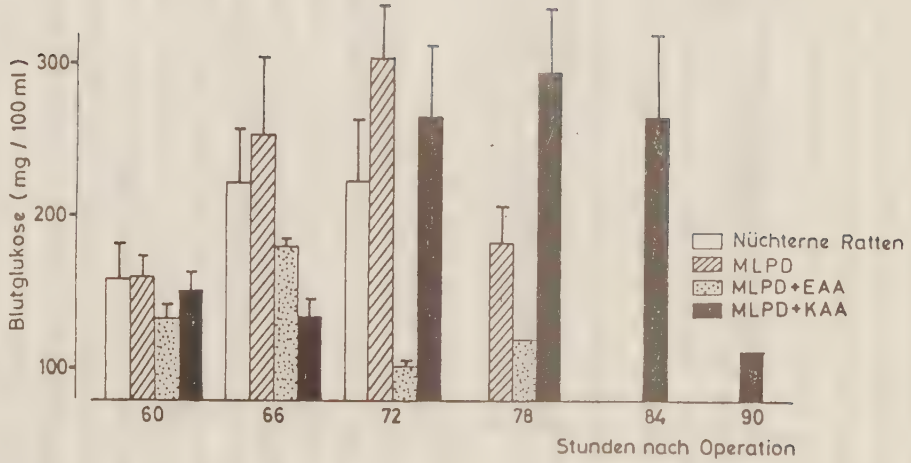

Abbildung 4:

Verhalten der Blutglukose (mg/100 ml) nach Binephrektomie bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit proteinarmer Diät (MLPD), essentiellen Aminosäuren (MLPD + EAA) und Ketosäuren nach Walser (MLPD + KAA) (Mittelwerte $\pm$ SD)

Stunden nach Binephrektomie	60 h	66 h	72 h	78 h	84 h	90 h
Diät: N (n = 10)	11,2 ± 1,1	11,2 ± 2,2	11,0 ± 1,1	-	-	-
Diät: B (n = 5)	11,5 ± 0,8	11,9 ± 0,6	10,4 ± 1,1	11,7 ± 1,2	-	-
Diät: E (n = 5)	9,6 ± 0,8	10,5 ± 1,5	12,0 ± 0,7	11,6	-	-
Diät: K (n = 10)	11,4 ± 0,9	11,8 ± 1,3	11,7 ± 1,0	11,0 ± 0,7	12,5 ± 1,3	13,6

Tabelle 2:
Verhalten von Serum-Kreatinin (mg/dl) nach Binephrektomie bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit proteinarmer Diät (B), essentiellen Aminosäuren (E) und Ketosäuren nach Walser (K)
(Mittelwerte ± SD)

3.2.5. Serum-Natrium (vergl. Tab. 3)

Der Natriumgehalt des Plasmas gibt einen Hinweis auf eine Hyper- bzw. Dehydratation des Organismus. Die höchsten Werte fanden sich bei den Tieren mit der Nulldiät (bis 158 mmol l). Die Natriumkonzentration der Tiere mit Basisdiät schwankte zwischen 147 mmol l (60 h) und 137 mmol l (72 h). Die geringsten Schwankungen des Serum-Natriums zeigten die Tiere unter Gabe von essentiellen Aminosäuren. Die Mittelwerte lagen hier bei 152 mmol/l. Bei den Tieren mit Ketosäurendiät fanden wir Werte zwischen 154 mmol/l und 136 mmol/l (84 h).

3.2.6. Serum-Kalium (vergl. Tab. 4)

Da die Ausscheidung von Kalium durch die Binephrektomie unmöglich gemacht wurde, mußte man mit stark erhöhten Serumkaliumkonzentrationen rechnen. Schon nach 60 Stunden waren mit Werten um 10 mmol l fast letale Konzentrationen erreicht. Die höchsten Kaliumwerte bestimmten wir bei der Gruppe mit essentiellen Aminosäuren. Der höchste Einzelwert überhaupt wurde mit 12,0 mmol l bei nüchternen Kontrolltieren 72 Stunden nach Binephrektomie gemessen.

Die niedrigsten Kaliumkonzentrationen ergaben sich unter Verfütterung des Ketosäurengemisches nach Walser. 60 Stunden nach Binephrektomie war der niedrigste von den bestimmten Mittelwerten 8,8 mmol l. Die Kaliumkonzentration stieg schließlich aber auch bei diesen Tieren auf maximal 11,6 mmol/l nach 84 Stunden.

Stunden nach Binephrektomie	60 h	66 h	72 h	78 h	84 h	90 h
Diät: N (n = 10)	158 ± 7,8	150 ± 8,6	144 ± 2,2	-	-	-
Diät: B (n = 5)	147 ± 3,8	140 ± 3,9	137 ± 3,0	142 ± 4,3	-	-
Diät: E (n = 5)	151 ± 6,4	152 ± 3,9	152 ± 3,9	153	-	-
Diät: K (n = 10)	154 ± 5,4	151 ± 7,2	139 ± 10,1	138 ± 4,8	136 ± 9,0	144

Tabelle 3:
Verhalten von Serum-Natrium (mmol/l) nach Binephrektomie bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit proteinarmer Diät (B), essentiellen Aminosäuren (E) und Ketosäuren nach Walser (K) (Mittelwerte ± SD)

Stunden nach Binephrektomie	60 h	66 h	72 h	78 h	84 h	90 h
Diät: N (n = 10)	10,1 ± 1,2	11,5 ± 1,6	12,0 ± 0,9	-	-	-
Diät: B (n = 5)	9,0 ± 0,9	9,1 ± 1,4	11,5 ± 0,4	10,8 ± 0,7	-	-
Diät: E (n = 5)	11,5 ± 0,8	10,5 ± 2,4	10,9 ± 0,5	10,9	-	-
Diät: K (n = 10)	8,8 ± 1,3	10,2 ± 1,0	10,9 ± 1,3	11,3 ± 2,3	11,6 ± 0,5	11,5

Tabelle 4:
Verhalten von Serum-Kalium (mmol/l)nach Binephrektomie bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit proteinarmer Diät (B), essentiellen Aminosäuren (E) und Ketosäuren nach Walser (K) (Mittelwerte ± SD)

3.3. Ergebnisse der Organanalysen

3.3.1. Proteingehalt der Organe

3.3.1.1. Proteingehalt der Muskulatur (vergl. Tab. 5)

Der Proteingehalt in der Muskulatur lag zwischen einem Minimalwert von 11,5 mg/ml Rohextrakt 66 Stunden nach Binephrektomie unter Nulldiät und 21,0 mg/ml Rohextrakt bei einem Tier unter Substitution mit essentiellen Aminosäuren (E 781).

Bei den Tieren mit Nulldiät wurde ein Proteingehalt zwischen 11,5 mg/ml Rohextrakt nach 66 Stunden und 14,8 mg/ml Rohextrakt nach 72 Stunden bestimmt. Vergleichbare Konzentrationen zeigten die Ratten mit proteinarmer Basisdiät. Die Werte lagen alle zwischen 11,6 mg/ml nach 72 Stunden und 14,5 mg/ml nach 66 Stunden. Etwas höhere Muskelproteinwerte ergaben sich für die Tiere mit der Ketosäurenmischung nach Walser. Der Proteingehalt änderte sich bei diesen Tieren nur gering und schwankte zwischen 12,8 mg/ml nach 66 Stunden und 14,3 mg/ml nach 60 Stunden. Für die Tiere mit Substitution von essentiellen Aminosäuren ergaben sich die höchsten Proteinkonzentrationen. Die Werte lagen mit 16,5 mg/ml nach 66 Stunden und 17,7 mg/ml nach 60 Stunden über den der anderen Gruppen.

3.3.1.2. Proteingehalt der Leber (vergl. Tab. 6)

Der Proteingehalt der Leber lag bei allen Tieren etwa drei- bis viermal so hoch als der der Muskulatur. Die niedrigsten Werte fanden wir wiederum bei den Kontrolltieren mit Nulldiät. Der Proteingehalt lag bei dieser Gruppe zwischen 41,7 mg/ml Rohextrakt nach 72 Stunden und 48,4 mg/ml nach 66 Stunden. Etwas höhere Werte wurden bei den Gruppen mit proteinarmer Basisdiät gemessen. Bei diesen Tieren lagen die Werte zwischen 52,1 mg/ml nach 72 Stunden und 58,3 mg/ml Rohextrakt nach 78 Stunden. Unter Ketosäurendiät fiel der Proteingehalt der Leber von

Stunden nach Binephrektomie	60 h	66 h	72 h	78 h	84 h	90 h
Diät: N (n = 10)	13,0 ± 2,3	11,5 ± 2,6	14,8 ± 1,1	-	-	-
Diät: B (n = 5)	12,8 ± 1,3	14,5 ± 2,9	11,6 ± 1,19	12,4 ± 2,1	-	-
Diät: E (n = 5)	17,7 ± 2,1	16,5 ± 0,5	18,4 ± 0,7	21,0	-	-
Diät: K (n = 10)	14,3 ± 1,7	12,8 ± 1,4	14,0 ± 1,6	13,0 ± 1,2	13,2 ± 2,4	13,5

Tabelle 5:
Verhalten des Muskelproteins (mg/ml Rohextrakt) nach Binephrektomie bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit proteinarmer Diät (B), essentiellen Aminosäuren (E) und Ketosäuren nach Walser (K) (Mittelwerte ± SD)

Stunden nach Binephrektomie	60 h	66 h	72 h	78 h	84 h	90 h
Diät: N (n = 10)	47,8 ± 11,4	48,4 ± 5,2	41,7 ± 8,8	-	-	-
Diät: B (n = 5)	51,8 ± 8,2	54,6 ± 11,7	52,1 ± 6,0	58,3 ± 8,9	-	-
Diät: E (n = 5)	64,6 ± 7,3	61,9 ± 11,0	61,6 ± 8,6	56,3	-	-
Diät: K (n = 10)	58,9 ± 9,8	56,6 ± 8,6	53,7 ± 6,3	55,8 ± 17,1	46,1 ± 5,7	53,4

Tabelle 6:
Verhalten des Leberproteins (mg/ml Rohextrakt) nach Binephrektomie bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit proteinarmer Diät (B), essentiellen Aminosäuren (E) und Ketosäuren nach Walser (K)
(Mittelwerte ± SD)

58,9 mg/ml Rohextrakt nach 60 Stunden relativ gleichmäßig auf 46,1 mg/ml nach 84 Stunden ab. Die Tiere mit essentiellen Aminosäuren hatten wiederum den höchsten Proteingehalt. Nach 60 Stunden wurden 64,6 mg/ml Leber-Rohextrakt gemessen. Der Proteingehalt ging dann auch hier relativ gleichmäßig bis auf 56,3 mg/ml Rohextrakt nach 78 Stunden zurück.

3.3.1.3. Vergleich zwischen Proteingehalt des Muskels und der Leber (vergl.Tab.7)

Setzt man den Proteingehalt des Muskels zum Proteingehalt der Leber in Beziehung, so ergeben sich folgende Beziehungen:
Der Proteingehalt der Muskulatur lag zwischen 21,3 % und 37,3 % des Proteingehaltes der Leber. Der hohe Wert (37,3 %) ergab sich bei einem einzigen Tier (E 781). Meist schwanken die Quotienten bei allen Diäten um 25 %.

3.3.2. Glykogengehalt der Organe

3.3.2.1. Glykogengehalt der Muskulatur (vergl. Abb. 5, Tab. 8)

Da dem Skelett-Muskel das Enzym Glukose-6-Phosphatase fehlt, dient das Glykogen dem Muskel als Energieträger in erster Linie zum Eigenbedarf. Der Glykogengehalt des Muskels spiegelt daher den Energiezustand des Organs wieder. Niedrige Glykogenwerte konnten für die Kontrollgruppe mit der Nulldiät erwartet werden. Die Tiere zeigten aber überraschenderweise relativ hohe Werte. Der Glykogengehalt der Muskulatur lag bei den Tieren trotz der Nulldiät nach 60 Stunden bei 9,5 ug/ml Rohextrakt und fiel dann auf 6,2 ug/ml Rohextrakt nach 72 Stunden ab. Einen niedrigeren Glykogengehalt hatten die Tiere unter Verfütterung der proteinarmen Basisdiät allein und in Kombination mit essentiellen Aminosäuren. Die Tiere mit Basisdiät zeigten mit 5,8 ug/ml Rohextrakt nach 60 Stunden den niedrigsten Glykogengehalt der überhaupt gemessen wurde. Bei der

Stunden nach Binephrektomie	60 h	66 h	72 h	78 h	84 h	90 h
Diät: N	27,2	23,7	35,5	-	-	-
Diät: B	24,7	26,6	22,3	21,3	-	-
Diät: E	27,4	26,7	29,9	37,3	-	-
Diät: K	24,2	22,6	26,1	23,3	28,6	25,3

Tabelle 7:
Beziehung zwischen Muskel- und Leberproteingehalt (in %) nach Binephrektomie bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit proteinarmer Diät (B), essentiellen Aminosäuren (E) und Ketosäuren nach Walser (K) (Mittelwerte $\pm$ SD)

Stunden nach Binephrektomie	60 h	66 h	72 h	78 h	84 h	90 h
Diät: N (n = 10)	9,5 ± 3,2	9,0 ± 2,8	6,2 ± 3,4	-	-	-
Diät: B (n = 5)	5,8 ± 2,6	7,6 ± 5,3	7,4 ± 2,9	8,1 ± 3,4	-	-
Diät: E (n = 5)	9,4 ± 2,6	6,6 ± 1,7	7,6 ± 3,8	8,1	-	-
Diät: K (n = 10)	15,3 ± 3,4	12,9 ± 3,9	10,3 ± 2,6	9,2 ± 2,2	10,2 ± 2,7	10,4

Tabelle 8:
Verhalten des Muskelglykogens (µg/ml Rohextrakt) nach Binephrektomie bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit proteinarmer Diät (B), essentiellen Aminosäuren (E) und Ketosäuren nach Walser (K) (Mittelwerte ± SD)

Gruppe mit essentiellen Aminosäuren wurde nach 66 Stunden mit 6,6 ug/ml Rohextrakt der niedrigste Glykogenwert zu diesem Zeitpunkt bestimmt. Die besten Ergebnisse erbrachte die Substitution von Ketosäuren:
Nach 60 Stunden wurden 15,3 ug Glykogen/ml Rohextrakt gemessen. Der Glykogengehalt fiel dann bei dieser Gruppe relativ gleichmäßig auf 10,4 ug/ml Rohextrakt bis zur 90. Stunde ab und lag damit noch höher als bei den restlichen Gruppen zu allen Zeitpunkten.

3.3.2.2. Glykogengehalt der Leber (vergl. Tab. 9)

Für den Glykogengehalt der Leber ergeben sich ähnliche Verhältnisse wie beim Muskel. Da der Glykogengehalt der Leber von der Ernährung sehr abhängig ist, mußte man stark erniedrigte Werte für die nüchternen Kontrolltiere erwarten. 60 Stunden nach Binephrektomie lagen sie bei 256 ug/ml Rohextrakt und nach 72 Stunden bei 167 ug/ml. Etwas besser lagen die Gruppen mit der proteinarmen Basisdiät. Ihr höchster Wert ergab nach 66 Stunden 560 ug/ml Rohextrakt. Der Glykogengehalt der Leber fiel bei diesen Tieren bis zur 78. Stunde schließlich auf 174 ug/ml Rohextrakt ab. Noch günstigere Ergebnisse zeigten die Gruppen, die zusätzlich essentielle Aminosäuren erhalten hatten: Nach 66 Stunden wurden 932 ug/ml Glykogen gemessen, nach 72 Stunden 342 ug/ml Glykogen. Die höchsten Werte ergaben sich aber für die Tiere mit der Ketosäuren diät. Nach 66 Stunden wurden im Mittel 1378 ug Glykogen/ml Rohextrakt gemessen und auch nach 72 Stunden noch 899 ug/ml. Auch bei diesen Tieren fiel der Glykogengehalt schließlich auf 212 ug/ml nach 84 Stunden ab. Es fällt auf, daß die höchsten Glykogenkonzentrationen nach 66 Stunden gemessen wurden. Dies läßt sich dadurch erklären, daß die Tiere alle 8 Stunden gefüttert wurden und sich die Fütterung in der 64. Stunde deutlich auf die nach 66 Stunden bestimmten Parameter auswirkt.

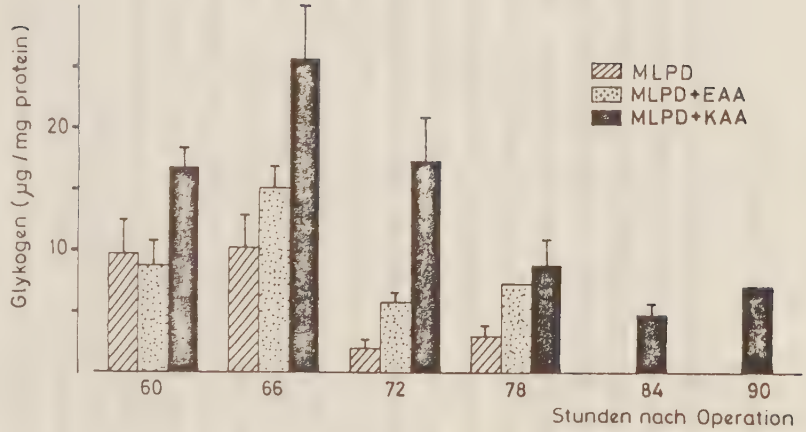

Abbildung 5:

Verhalten des Glykogengehalts (µg/mg Protein) der Muskulatur nach Binephrektomie bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit proteinarmer Diät (MLPO), essentiellen Aminosäuren (MLPD + EAA) und Ketosäuren nach Walser (MLPD + KAA). (Mittelwerte $\pm$ SD)

Stunden nach Binephrektomie	60 h	66 h	72 h	78 h	84 h	90 h
Diät: N (n = 10)	256 ± 158	157 ± 115	167 ± 46	-	-	-
Diät: B (n = 5)	477 ± 269	560 ± 384	105 ± 56	174 ± 86	-	-
Diät: E (n = 5)	564 ± 271	932 ± 669	342 ± 105	405	-	-
Diät: K (n = 10)	816 ± 300	1378 ± 732	899 ± 465	464 ± 245	221 ± 96	381

Tabelle 9:
Verhalten des Leberglykogens (µg/ml Rohextrakt) nach Binephrektomie bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit proteinarmer Basisdiät (B), essentiellen Aminosäuren (E) und Ketosäuren nach Walser (K) (Mittelwerte ± SD).

3.3.2.3. Vergleich zwischen dem Glykogengehalt des Muskels und der Leber (vergl. Tab. 10)

Setzt man den Glykogengehalt des Muskels zu dem der Leber in Beziehung, so kann man erkennen, welches Organ relativ die größeren Verluste an Glykogen erleidet, bzw. ob es zu einer Umverteilung des Glykogens zwischen den Organen gekommen ist. Es zeigt sich, daß bei den Kontrolltieren mit der Nulldiät der Glykogenabbau in der Leber relativ größer war als bei allen anderen Diäten.
Der relativ hohe Muskel-/Leber-Quotient am Ende der Überlebenskurve zeigt, daß es zu einem stärkeren Abbau des Leberglykogens gekommen ist.

3.3.3. Glykogengehalt/Proteingehalt der Organe

Um die Effekte der verschiedenen Diäten auf die Glykogenkonzentration der untersuchten Organe weiter differenzieren zu können, wurde der Glykogengehalt zum Proteingehalt in Beziehung gesetzt.

3.3.3.1. Glykogengehalt/Proteingehalt der Muskulatur (vergl. Tab. 11)

Die proteinarme Basisdiät allein und in Kombination mit essentiellen Aminosäuren lassen den Glykogengehalt der Muskulatur unbeeinflußt niedrig. Die Werte liegen sogar noch gering unter denen der Kontrollgruppe mit Nulldiät. Deutlich günstigere Ergebnisse liefert dagegen die Diät mit Ketosäuren. Hier sind die Glykogenkonzentrationen faßt doppelt so hoch als unter den übrigen Diäten. Selbst nach 84 und 90 Stunden ergaben sich bei Gabe der Ketosäurendiät höhere Glykogen/Protein-Quotienten als bei den anderen Diäten zu allen untersuchten Zeitpunkten.

Stunden nach Binephrektomie	60 h	66 h	72 h	78 h	84 h	90 h
Diät: N (n = 10)	3,7	5,7	3,7	-	-	-
Diät: B (n = 5)	1,2	1,4	7,0	4,7	-	-
Diät: E (n = 5)	1,7	0,6	2,2	2,0	-	-
Diät: K (n = 10)	1,9	0,9	1,1	2,0	4,6	2,7

Tabelle 10:
Beziehung zwischen Muskel- und Leberglykogengehalt (in %) nach Binephrektomie bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit proteinarmer Diät (B), essentiellen Aminosäuren (E) und Ketosäuren nach Walser (K)
(Mittelwerte $\pm$ SD)

Stunden nach Binephrektomie	60 h	66 h	72 h	78 h	84 h	90 h
Diät: N (n = 10)	0,70 ± 0,40	0,86 ± 0,37	0,42 ± 0,23	-	-	-
Diät: B (n = 5)	0,46 ± 0,23	0,54 ± 0,37	0,65 ± 0,23	0,65 ± 0,21	-	-
Diät: E (n = 5)	0,53 ± 0,16	0,40 ± 0,11	0,41 ± 0,20	0,39	-	-
Diät: K (n = 10)	1,07 ± 0,18	1,01 ± 0,30	0,75 ± 0,25	0,71 ± 0,15	0,83 ± 0,36	0,77

Tabelle 11:

Beziehung zwischen Muskelglykogen und Muskelprotein (µg/Glykogen/mg Protein) nach Binephrektomie bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit proteinarmer Diät (B), essentiellen Aminosäuren (E) und Ketosäuren nach Walser (K) (Mittelwerte ± SD)

3.3.3.2. Glykogengehalt/Proteingehalt der Leber (vergl. Tab. 12)

Die gewonnenen Quotienten verdeutlichen die vorhergehenden Ergebnisse. Die Kontrolltiere mit der Nulldiät zeigen bei weitem die niedrigsten Glykogenkonzentrationen (zwischen 6,2 µg/mg Protein nach 60 Stunden und 3,3 µg/mg Protein nach 66 Stunden).
Die Glykogenkonzentrationen der Tiere mit Basisdiät liegen mit 9,7 µg/mg Protein nach 60 Stunden und 10,3 µg/mg Protein nach 66 Stunden etwas höher. Auffällig ist bei ihnen der relativ starke Abbau des Leberglykogens am Ende der Überlebenskurve. Die Tiere mit zusätzlicher Gabe von essentiellen Aminosäuren zeigen ähnliche Werte, nur liegt der Gipfel mit 15,1 µg/mg Protein nach 66 Stunden doch deutlich höher. Durch die Substitution von Ketosäuren gelingt es, den Glykogengehalt der Leber weitgehend zu erhalten. Dies zeigt deutlich der oft doppelt so große Glykogen/Protein-Quotient (vergl. Tab. 12). Nach 66 Stunden wurde mit 25,7 µg/mg Protein der höchste Glykogengehalt gemessen. Der hohe Wert ist wiederum bedingt durch die vorausgegangene Fütterung in der 64. Stunde nach Binephrektomie. Der Glykogengehalt/mg Protein sinkt auch bei der Ketosäurendiät nach 84 Stunden bis auf 4,8 µg/mg Protein ab. Die niedrigen Werte am Ende der Überlebenskurve weisen wiederum auf eine Erschöpfung der Glykogen- und damit der Energiereserven der Leber hin.

3.3.4. Gesamtkohlenhydratgehalt

Der Gesamtkohlenhydratgehalt wurde nur in der Leber bestimmt (Analyse siehe Methodenteil).

3.3.4.1. Gesamtkohlenhydratgehalt der Leber (mg/ml Rohextrakt, vergl. Tab. 13)

Die Meßergebnisse des Gesamtkohlenhydratgehalts der Leber spiegeln in der Tendenz die früheren Meßergebnisse des Glykogengehalts wieder. Der Gesamtkohlenhydratgehalt liegt dabei 10 - bis 40mal höher als die bestimmte Glykogenkonzentration. Verschiebungen kommen wahrscheinlich

Stunden nach Binephrektomie	60 h	66 h	72 h	78 h	84 h	90 h
Diät: N (n = 10)	6,2 ± 3,5	3,3 ± 2,5	4,2 ± 1,6	-	-	-
Diät: B (n = 5)	9,7 ± 6,2	10,3 ± 5,8	2,0 ± 1,5	2,9 ± 2,0	-	-
Diät: E (n = 5)	8,8 ± 4,6	15,1 ± 4,3	5,8 ± 1,5	7,2	-	-
Diät: K (n = 10)	16,7 ± 5,7	25,7 ± 15,6	17,4 ± 11,7	8,9 ± 4,8	4,8 ± 2,4	7,1

Tabelle 12:

Beziehung zwischen Leberglykogen und Leberprotein(ug Glykogen/mg Protein) nach Binephrektomie bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit proteinarmer Diät (B), essentiellen Aminosäuren (E) und Ketosäuren nach Walser (K) (Mittelwerte ± SD)

Stunden nach Binephrektomie	60 h	66 h	72 h	78 h	84 h	90 h
Diät: N (n = 10)	8,4 ± 1,9	7,7 ± 2,1	6,8 ± 1,6	-	-	-
Diät: B (n = 5)	10,1 ± 1,5	12,8 ± 2,4	9,0 ± 2,2	9,6 ± 2,0	-	-
Diät: E (n = 5)	6,4 ± 1,7	6,5 ± 1,9	3,2 ± 1,3	4,1	-	-
Diät: K (n = 10)	11,4 ± 1,7	9,7 ± 3,6	12,6 ± 2,9	8,4 ± 2,5	7,4 ± 2,8	6,2

Tabelle 13:
Verhalten des Gesamtkohlenhydratgehalts der Leber (mg/ml Rohextrakt) nach Binephrektomie bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit proteinarmer Diät (B), essentiellen Aminosäuren (E) und Ketosäuren nach Walser (K) (Mittelwerte ± SD)

dadurch zustande, daß z. B. bei den Kontrolltieren mit der Nulldiät die Glykogenreserven einerseits fast völlig erschöpft waren, dagegen andere Kohlenhydrate, z. B. die des Strukturgewebes oder klein molekulare Abbauprodukte weniger stark betroffen waren. Dadurch ergeben sich für die Kontrolltiere mit Nulldiät relativ höhere Werte (zwischen 8,4 mg und 6,8 mg/ml Rohextrakt). Die Tiere mit der Basisdiät hatten einen noch höheren Gesamtkohlenhydratgehalt zwischen 9,0 und 12,8 mg/ml Rohextrakt. Niedrigere Werte ergeben sich für die Gruppe mit essentiellen Aminosäuren. Hier lagen die Werte nach 60 Stunden bei 6,4 mg/ml Rohextrakt und fielen bis auf 3,2 mg/ml Rohextrakt nach 72 Stunden ab.
Die höchsten Werte wurden mit der Ketosäurendiät erreicht: Nach 60 Stunden lag der Gesamtkohlenhydratgehalt bei 11,4 mg/ml Rohextrakt und fiel dann auf 7,4 mg/ml Rohextrakt nach 84 Stunden ab.

3.3.4.2. Quotient Gesamtkohlenhydratgehalt/Proteingehalt der Leber (vergl. Tab. 14)

Wenn man den Gesamtkohlenhydratgehalt/ml Rohextrakt auf den Proteingehalt/ml Rohextrakt bezieht, lassen sich die Ergebnisse besser vergleichen, da der Rohextrakt als Bezugsgröße entfällt. Die relativen Werte verdeutlichen noch die absoluten Ergebnisse.
Die Kontrolltiere mit Nulldiät zeigen, gemessen am Proteingehalt, einen relativ hohen Gesamtkohlenhydratgehalt (bis zu 184 ug/mg Protein nach 60 Stunden). Die Gruppen mit proteinarmer Basisdiät und die Tiere mit Ketosäurendiät erreichten den höchsten Gesamtkohlenhydratgehalt. Die Werte lagen zwischen 162 µg/mg Protein (K 84) und 238 µg/mg Protein (K 72). Da die Tiere mit essentiellen Aminosäuren einen relativ hohen Proteingehalt der Leber zeigten, ergab sich für diese Gruppen bei dem Quotienten aus Gesamtkohlenhydratgehalt/Proteingehalt noch niedrigere Werte als bei der Berechnung pro ml Rohextrakt. Nach 72 Stunden enthielt die Leber dieser Tiere z.B. nicht einmal mehr 1/4 des Gesamtkohlenhydratgehalts der Tiere mit Ketosäurendiät.

Stunden nach Binephrektomie	60 h	66 h	72 h	78 h	84 h	90 h
Diät: N (n = 10)	184 ± 63	157 ± 36	169 ± 50	-	-	-
Diät: B (n = 5)	199 ± 45	234 ± 77	173 ± 45	165 ± 33	-	-
Diät: E (n = 5)	101 ± 52	70 ± 38	52 ± 20	73	-	-
Diät: K (n = 10)	199 ± 57	175 ± 73	238 ± 68	156 ± 60	162 ± 69	116

Tabelle 14:
Beziehung zwischen Gesamtkohlenhydratgehalt der Leber und Leberprotein (in µg Kohlehydrate/mg Protein) nach Binephrektomie bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit proteinarmer Basisdiät (B), essentiellen Aminosäuren (E) und Ketosäuren nach Walser (K) (Mittelwerte ± SD)

3.3.5. Glykogensynthetase

Vorbemerkung:
Die Glykogensynthetase existiert in Leber und Muskel in zwei Formen: Die D-Form ist nur in Gegenwart von Glukose-6-Phosphat aktiv, die I-Form benötigt dagegen keine Glukose-6-Phosphat. Die I-Form entsteht aus der D-Form durch Dephosphorylierung. c-AMP führt über die Aktivierung einer Proteinkinase zur Phosphorylierung der I-Form und damit zu einer Inaktivierung des Enzyms.

3.3.5.1. Gesamtaktivität der Glykogensynthetase im Muskel (D + I-Form, vergl. Tab. 15)

Die Glykogensynthetaseaktivität (D + I-Form) war im Skelettmuskel bei allen Diätformen relativ ausgeglichen. Die Tiere der Kontrollgruppe erreichten nach 60 Stunden von 6,5 nMol umgesetzter Glukose · min/mg Protein. Die spezifische Aktivität erreichte mit 8,3 nMol/min/mg nach 66 Stunden ihren Höhepunkt und fiel dann nach 72 Stunden wieder auf 5,8 nMol ab.
Bei den mit Basisdiät gefütterten Ratten zeigte sich ein ähnliches Verhalten. Nach 60 Stunden wurde eine Aktivität von 6,7 nMol gemessen, sie stieg dann nach 66 Stunden auf 7,6 nMol und fiel nach 78 Stunden langsam auf 6,0 nMol ab. Die Gruppen mit essentiellen Aminosäuren zeigten Werte zwischen 7,6 nMol nach 60 Stunden und 5,3 nMol nach 72 Stunden. Der hohe Wert von 9,8 nMol/min/mg nach 78 Stunden stammt von dem einzigen überlebenden Tier. Etwas auffälliger ist das Ergebnis unter Ketosäurendiät. Diese Gruppen hatten die größte Glykogensynthetaseaktivität nach 60 Stunden mit 7,0 nMol/min/mg. Die Aktivität des Enzyms fiel dann langsam auf 4,4 nMol nach 84 Stunden ab. Die Werte lagen im ganzen etwas niedriger als bei Verfütterung der anderen Diäten.

Stunden nach Binephrektomie	60 h	66 h	72 h	78 h	84 h	90 h
Diät: N (n = 10)	6,5 ± 1,9	8,3 ± 3,0	5,8 ± 1,5	-	-	-
Diät: B (n = 5)	6,7 ± 1,3	7,6 ± 3,6	5,7 ± 1,4	6,0 ± 2,0	-	-
Diät: E (n = 5)	7,6 ± 0,8	7,3 ± 2,2	5,3 ± 0,9	9,8	-	-
Diät: K (n = 10)	7,0 ± 2,3	5,6 ± 2,2	3,8 ± 0,8	4,7 ± 1,5	4,4 ± 1,9	4,4

Tabelle 15:
Verhalten der Gesamtaktivität der Muskelglykogensynthetase (D+I-Form) (nMol umgesetzte Glukose/min/mg Protein) nach Binephrektomie bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit proteinarmer Diät (B), essentiellen Aminosäuren (E) und Ketosäuren nach Walser (K) (Mittelwerte ± SD)

3.3.5.2. Gesamtaktivität der Glykogensynthetase (D+I-Form) in der Leber (vergl. Tab. 16)

Die Aktivität der Glykogensynthetase erreichte in der Leber nur 20 bis 30 % der Aktivität im Muskel. Die Schwankungen der einzelnen Ergebnisse waren dabei etwas stärker als im Muskel. Die Werte der Kontrolltiere mit Nulldiät lagen zwischen 1,9 nMol/min/mg nach 60 Stunden und 1,4 nMol/min/mg nach 72 Stunden. Bei der Gruppe mit proteinarmer Basisdiät stieg die Aktivität des Enzyms von 1,6 nMol/min/mg nach 60 Stunden auf 2,3 nMol/min/mg nach 78 Stunden. Die Werte der Tiere mit essentiellen Aminosäuren lagen etwa in der gleichen Größenordnung. Doch zeigte sich hier nach 66 Stunden ein Gipfel des Glykoseumsatzes (E 66: 3,6 nMol/min/mg). Die Enzymaktivität erreichte bei den Gruppen mit Ketosäuren noch höhere Werte. Hier zeigte sich ein besonders hoher Glukoseumsatz 72 Stunden nach Binephrektomie.

3.3.5.3. Vergleich zwischen der spezifischen Aktivität der Glykogensynthetase (D+I-Form) des Muskels und der Leber (vergl. Tab. 17)

Die Aktivität der Glykogensynthetase war im Muskel 1, 1- bis 4,6 fach so hoch wie in der Leber. Die relativ höchsten Aktivitäten zeigten sich bei den Kontrolltieren mit Nulldiät. Hier scheint die Aktivität der Glykogensynthetase stark zu Gunsten des Muskelgewebes verschoben zu sein. Etwas geringere Werte zeigten sich bei den Gruppen mit Basisdiät und den Gruppen mit essentiellen Aminosäuren. Hier lagen die Quotienten zwischen 4,2 und 2,0. Niedrigere Quotienten zeigten sich unter Ketosäurendiät. Hier erhöhte die Diät die spezifische Aktivität der Glykogensynthetase im Muskel gegenüber der Leber relativ am geringsten. Die Quotienten lagen zwischen 3,0 und 1,1.

Stunden nach Binephrektomie	60 h	66 h	72 h	78 h	84 h	90 h
Diät: N (n = 10)	1,9 ± 0,3	1,8 ± 0,3	1,4 ± 0,3	-	-	-
Diät: B (n = 5)	1,6 ± 0,4	2,1 ± 0,4	2,3 ± 0,4	2,3 ± 0,7	-	-
Diät: E (n = 5)	1,9 ± 0,2	3,6 ± 1,9	1,8 ± 0,4	2,3	-	-
Diät: K (n = 10)	2,3 ± 0,6	2,2 ± 0,7	3,5 ± 0,5	2,3 ± 0,5	2,9 ± 0,9	2,0

Tabelle 16:
Verhalten der Gesamtaktivität der Leberglykogensynthetase (D+I-Form) (nMol umgesetzte Glukose/min/mg Protein) nach Binephrektomie bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit proteinarmer Diät (B), essentiellen Aminosäuren (E) und Ketosäuren nach Walser (K). (Mittelwerte ± SD)

Stunden nach Binephrektomie	60 h	66 h	72 h	78 h	84 h	90 h
Diät: N (n = 10)	3,4	4,6	4,1	-	-	-
Diät: B (n = 5)	4,2	3,6	2,5	2,6	-	-
Diät: E (n = 5)	4,0	2,0	2,9	4,3	-	-
Diät: K (n = 10)	3,0	2,5	1,1	2,0	1,5	2,2

Tabelle 17:
Beziehung zwischen der Gesamtaktivität der Muskel- und Leberglykosen-Synthetase, D+I-Form (Quotientenangabe) nach Binephrektomie bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit proteinarmer Diät (B), essentiellen Aminosäuren (E) und Ketosäuren nach Walser (K) (Mittelwerte $\pm$ SD)

3.3.6. Glykogensynthetase I

3.3.6.1. Glykogensynthetase I (aktive Form) im Muskel (vergl. Tab. 18)

Die Glukoseumsatzrate erreichte im Muskel Werte von 6,5 nMol/min/mg Protein (B 66) bis 2,6 nMol/min/mg Protein (K 72). Die höchsten Werte zeigten sie bei den Gruppen mit Nulldiät und den Gruppen mit proteinarmer Basisdiät (B 66: 6,0 nMol; N 66: 6,0 nMol/min/mg). Die relativ niedrigsten Werte erreichten wiederum die Tiere mit Ketosäurendiät. In der Tendenz entsprachen die Ergebnisse den Messungen der Gesamtaktivität der Glykogensynthetase (D+I-Form). Der Anteil der I-Form an der Gesamtaktivität des Enzyms lag zwischen 66,5 und 85,5 %. Die höchste Prozentrate fand sich bei den Gruppen mit Basisdiät, niedrigere Werte bei den Tieren mit essentiellen Aminosäuren und Ketosäuren.

3.3.6.2. Glykogensynthetase I (aktive Form)in der Leber (vergl. Abb. 6, Tab. 19)

Die spezifische Aktivität der Synthetase I lag zwischen 1,2 und 2,6 nMol/min/mg Protein. Die niedrigsten Werte fanden sich dabei bei der Kontrollgruppe mit Nulldiät. Nach 60 Stunden wurde eine Aktivität von 1,5 nMol und nach 72 Stunden von 1,2 nMol/min/mg Protein gemessen. Die Tiere mit proteinarmer Basisdiät lagen mit ihren Werten nicht viel höher (zwischen 1,2 nMol nach 60 Stunden und 1,8 nMol nach 80 Stunden). Erhöhte spezifische Aktivitäten fanden sich bei den Tieren mit essentiellen Aminosäuren und denen mit Ketosäuren (E 66: 3,0 nMol, K 72: 2,4 nMol). Die Gipfel der Aktivitäten der I-Form entsprachen den Meßergebnissen der D + I-Form. Der Anteil der I-Form an der Gesamtglykogensynthetase (D+I-Form) lag zwischen 70,3 und 86,6 %.

Stunden nach Binephrektomie	60 h	66 h	72 h	78 h	84 h	90 h
Diät: N (n = 10)	$5,1 \pm 1,5$	$6,0 \pm 2,2$	$4,7 \pm 1,3$	-	-	-
Diät: B (n = 5)	$5,6 \pm 1,5$	$6,5 \pm 3,2$	$4,5 \pm 1,2$	$4,9 \pm 2,0$	-	-
Diät: E (n = 5)	$5,6 \pm 1,0$	$5,2 \pm 2,1$	$3,5 \pm 1,0$	7,5	-	-
Diät: K (n = 10)	$4,9 \pm 1,4$	$4,6 \pm 2,0$	$2,6 \pm 1,0$	$3,6 \pm 1,6$	$3,2 \pm 1,3$	3,8

Tabelle 18:
Verhalten der spezifischen Aktivität der Muskelglykogensynthetase I (nMol umgesetzte Glukose/min/mg Protein) nach Binephrektomie bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit proteinarmer Diät (B), essentiellen Aminosäuren (E) und Ketosäuren nach Walser (K) (Mittelwerte $\pm$ SD)

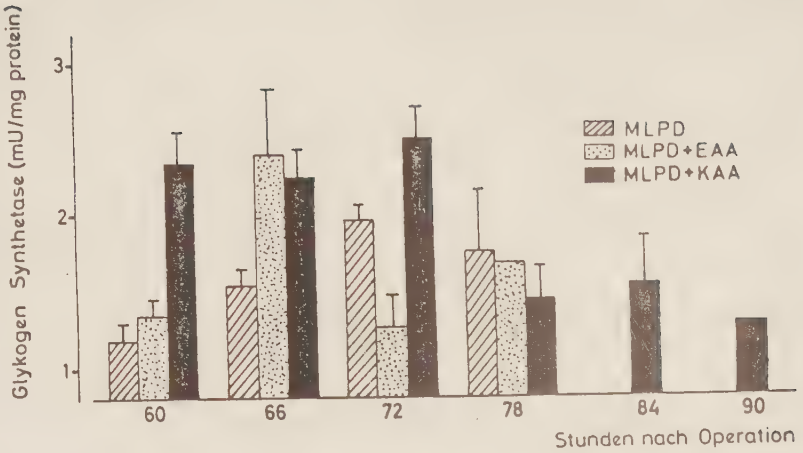

Abbildung 6:

Verhalten der Glykogensynthetase (mU/mg Protein) nach Binephrektomie bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit Proteinarmer Diät (MLPD), essentiellen Aminosäuren (MLPD + EAA) und Ketosäuren nach Walser (MLPD + KAA) (Mittelwerte $\pm$ SD)

Stunden nach Binephrektomie	60 h	66 h	72 h	78 h	84 h	90 h
Diät: N (n = 10)	1,5 ± 0,3	1,4 ± 0,4	1,2 ± 0,2	-	-	-
Diät: B (n = 5)	1,2 ± 0,3	1,5 ± 0,3	1,8 ± 0,2	1,8 ± 0,8	-	-
Diät: E (n = 5)	1,4 ± 0,1	3,0 ± 1,9	1,3 ± 0,4	1,7	-	-
Diät: K (n = 10)	1,9 ± 0,5	1,7 ± 0,7	2,4 ± 0,7	1,7 ± 0,5	2,6 ± 0,8	1,4

Tabelle 19:
Verhalten der spezifischen Akvitität der Leberglykogensynthetase I (nMol umgesetzte Glukose/min/mg Protein) nach Binephrektomie bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit proteinarmer Diät (B), essentiellen Aminosäuren (E) und Ketosäuren nach Walser (K) (Mittelwerte ± SD)

3.3.6.3. Vergleich zwischen der Glykogensynthetase I der Skelett-Muskulatur und der Leber (vergl. Tab. 20)

Die Aktivität der Glykogensynthetase I war im Muskel um das 1, 1- bis 4,7-fache höher als in der Leber. Die relativ stärkste Aktivitätsverschiebung zu Gunsten des Muskelgewebes fand sich bei den Tieren mit proteinarmer Basisdiät. Die Kontrollgruppe mit Nulldiät und die Tiere mit essentiellen Aminosäuren lagen mit ihrem Quotienten nur wenig darunter (B 60: 4,7; E 60: 4,0). Etwas stärker hebt sich dagegen die Gruppe, die mit Ketosäuren substitutiert werden, ab. Hier lagen die Quotienten zwischen 2,7 und 1,1.

Stunden nach Binephrektomie	60 h	66 h	72 h	78 h	84 h	90 h
Diät: N (n = 10)	3,4	4,3	3,9	-	-	-
Diät: B (n = 5)	4,7	4,3	2,5	2,7	-	-
Diät: E (n = 5)	4,0	1,7	2,7	4,4	-	-
Diät: K (n = 10)	2,6	2,7	1,1	2,1	1,2	2,7

Tabelle 20:
Beziehung zwischen der spezifischen Aktivität der Muskel- und Leber-Glykogensynthetase I (Quotientenangabe) nach Binephrektomie bei nüchternen Ratten (N), Tieren mit proteinarmer Diät (B), essentiellen Aminosäuren (E) und Ketosäuren nach Walser (K) (Mittelwerte $\pm$ SD)

4. DISKUSSION

Hyperglykämien bei nüchternen, urämischen Patienten (11) und auch bei experimentell induzierter akuter Urämie (43, 52) sind seit langem bekannt. Dabei unterscheiden sich jedoch die Daten verschiedener Arbeitsgruppen, je nach dem, ob die Glukosewerte mit enzymatischen oder reduzierenden Methoden ermittelt wurden. So fanden Reaven et al. (42) eine direkte Korrelation zwischen Serum-Kreatinin und Blutglukose unter Verwendung nichtspezifischer Methoden, während eine solche Beziehung mit enzymatischen Testen nicht gemacht werden konnte. Ferrannini et al. (16, 17) bestimmten normale Glukosewerte bei Dauerdialysepatienten unter Verwendung enzymatischer Analysen, fanden jedoch erhöhte Bluglukosewerte mit unspezifischen Testmethoden. Dagegen haben Teuscher et al. (56) eine direkte Korrelation zwischen enzymatisch analysierter Blutglukose und Harnstoff-N bei urämischen Patienten beschrieben.

Hyperglykämische Werte bei Urämie, ermittelt mit spezifischen Nachweismethoden, wurden jedoch in letzter Zeit auch von einer Reihe von Gruppen mitgeteilt (4, 37, 43, 47, 52).

Wir fanden bei nüchternen, binephrektomierten Ratten von der 60sten bis zur 72sten Stunde nach dem operativen Eingriff einen Anstieg der Blutglukosewerte auf maximal etwa 220 mg/dl, während die Vergleichswerte unter Verfütterung einer hochkalorischen, kohlenhydratreichen und proteinarmen Diät mit einem Maximalwert von 300 mg/dl noch deutlich höher lagen. Vergleichsweise niedrigere Glukosewerte fanden wir unter Substitution essentieller Aminosäuren oder Ketosäuren nach Walser (60). Unmittelbar präfinal kam es in jeder der Vergleichsgruppen zu einem drastischen Abfall der Blutglukosewerte, möglicherweise durch Erschöpfung der hepatischen Glykogenspeicher und/oder einer Acidose bedingten Hemmung der Glukoneogenese. Spontane Hypoglykämien bei urämischen Patienten sind ebenfalls von einer Reihe von Untersuchern beschrieben (18, 23, 40, 48). Möglicherweise führt vornehmlich der Verlust von effektivem Nierenparenchym mit einem Defizit in der renalen Glukoneogenese zu der beobachteten Hypoglykämie (43).

Bei nüchternen, binephrektomierten Tieren kommt es zwischen der 60sten und 72sten Stunde nach dem operativen Eingriff zu einem Anstieg des Harnstoff-N von im Mittel 397 auf 477 mg/dl. Unter Verfütterung einer hochkalorischen, proteinarmen Diät lagen die Werte mit maximal 588 mg/dl noch deutlich höher. Offensichtlich gelang es durch hochkalorische Ernährung nicht, den Katabolismus günstig zu beeinflussen. Die zusätzliche Gabe essentieller Aminosäuren bewirkte dagegen trotz einer erhöhten Stickstoffzufuhr eine Senkung des Harnstoff-N, wodurch der stoffwechselanabole Effekt essentieller Aminosäuren bei akuter Urämie in Übereinstimmung mit den von Abel et al. (1) gemachten Beobachtungen erneut belegt wird. Die Substitution stickstoffreicher Keto- bzw. Hydroxyanaloga bewirkt dagegen eine eindrucksvolle Senkung des Harnstoff-N, ebenso der Plasmakaliumwerte (möglicherweise über eine Hemmung des Proteinkatabolismus der Skelettmuskulatur), während andere Serumparameter wie Kreatinin und Natrium nicht beeinflußt werden.

Eine Reduzierung des Harnstoff-N unter Ketosäurengabe ohne Beeinflussung des Serumkreatinins ist bei chronischer Niereninsuffizienz von Heidland et al. (28) beschrieben. Gleichzeitig wurde ein Abfall des Serumphosphats mit Anstieg der Plasmacalciumkonzentration beobachtet. Hinweise für eine proteinanabole Wirkung der Ketosäurenmischung bei chronischer Urämie ergaben sich durch den Anstieg des Serumtransferrins, der Komplementfaktoren C 1 q, C 3 c und der totalen Komplementaktivität sowie durch Erhöhung von Präalbumin und Retinol bindendem Protein.
Keine Vorteile der Ketosäurensubstitution gegenüber der Gabe von Aminosäuren sehen Burns et al. (6). Diese Autoren fanden unter Ketosäurensupplementisierung ausgeprägte Hypercalcämien. Ein günstiger Effekt auf die Nierenfunktion ließ sich ebenfalls nicht bestätigen.

Die Fütterung einer hochkalorischen, proteinarmen Diät (0,12 g/kg/Körpergewicht, 40 Kcal pro kg pro 24 Stunden) kann den raschen Abbau des Leberglykogens bei akuter Urämie nicht verhindern. Keines dieser operierten Tiere überlebte mehr als 80 Stunden nach Binephrektomie. Die proteinarme Diät,

supplementiert mit essentiellen Aminosäuren (0,12 g/Ratte/24 Stud.) führte zwar zu keiner Verbesserung der Überlebensrate, dennoch war die Leberglykogenkonzentration deutlich höher. Ebenso günstig beeinflußt wurde der Leberproteingehalt. Die signifikant höchsten Glykogenkonzentrationen wurden unter Substitution der Ketosäurenmischung nach Walser (60) beobachtet. Dabei besteht unter diesen diätetischen Bedingungen eine enge Korrelation zwischen der spezifischen Aktivität der aktiven I-Form der Glykogensynthetase und der Leberglykogenkonzentration. Eine inverse Beziehung fanden wir zwischen Blutglukose und Leberglykogengehalt: Die Substitution mit Ketosäuren induziert einen hohen Glykogengehalt bei relativ niedrigen Blutglukosespiegeln. Nach der 70sten Stunde der akuten Urämie kommt es zu einem raschen Abfall der Leberglykogenkonzentration mit einem parallelen Anstieg der Blutglukosekonzentration.

Fröhlich et al. (19, 20) fanden eine Stimulierung der Glukoneogenese in Leberperfusionsexperimenten akut urämischer Ratten in Gegenwart essentieller Aminosäuren. Eine erhöhte Aminosäurenaufnahme in die Leberzelle (19, 33) und eine Stimulierung des Aminosäurentransport (2, 20) bei Urämie lassen vermuten, daß Aminosäuren die Glukosebildung in der urämischen Leber begünstigen. Moxley et al. (39) und Tilghman (59) haben die Aktivierung der Glukoneogenese durch Glukagon, Katecholamine und Parathormon beschrieben. Da die Plasmawerte dieser Hormone bei akuter und chronischer Urämie erhöht sind, wird weiter deutlich, warum die Glukoneogenese bei Niereninsuffizienz gesteigert ist.

Bergström und Hultman (3) fanden einen deutlichen Abfall des Muskelglykogens bei Patienten mit akutem Nierenversagen. Obwohl dieser Abbau nicht von der Ursache des akuten Nierenversagens abhängig war, fanden diese Autoren die eindrucksvollsten Ergebnisse bei postoperativer, akuter Urämie. Alle von uns untersuchten Gruppen zeigen in Übereinstimmung mit diesen Daten nach Binephrektomie einen deutlich erniedrigten Muskelglykogengehalt (Normalwert bei unbehandelten Kontrollratten ca. 10 µg Glykogen/mg Protein).

Auch am Skelettmuskel führt die Substitution mit dem Ketosäurengemisch nach Walser noch zu den günstigsten Ergebnissen, wenn auch die Effekte deutlich schwächer als in der Leber ausgeprägt sind. Die rapide Glykogenolyse der Skelettmuskulatur läßt sich auch durch Gabe von ß-Rezeptorenblocker im Gegensatz zu Versuchen nach operativem Streß nicht inhibieren (31). Die Glykogenolyse der Skelettmuskulatur bei akuter Urämie unterscheidet sich also eindeutig von einem rein Streß-induzierten Phänomen.

Die positiven Ergebnisse mit der Substitution von Keto- und Hydroxyanaloga bei chronischer Niereninsuffizienz werden durch unsere Versuchsdaten auch bei akuter Urämie bestätigt. Neben einer Erniedrigung der Serumglukose-, -Harnstoff-N- und -Kaliumwerte führte die Gabe von Ketosäuren über eine Verbesserung des Leber- und Muskelglykogenstoffwechsels auch zu einer deutlichen Steigerung der Überlebensrate nach Binephrektomie. Für die akute Urämie erweist sich die Supplementierung dieses Gemisches der Gabe von essentiellen Aminosäuren überlegen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

An binephrektomierten Ratten wurde der Einfluß einer Nulldiät, einer proteinarmen hochkalorischen, kohlenhydratreichen Basisdiät allein und in Kombination mit essentiellen Aminosäuren oder dem Ketosäurengemisch nach Walser auf den Glykogen- und Proteinstoffwechsel der Leber und der Skelettmuskulatur untersucht.

Nüchterne, akut urämische Tiere überleben bis zu 72 Stunden nach Binephrektomie. Parallel mit einem Anstieg der Harnstoff-N-Konzentration kommt es zu einer Erhöhung der Blutglukosewerte. Charakteristisch ist die drastische Verminderung des Leberglykogens, die die Muskeldegradation deutlich übersteigt. Muskel- und Leberprotein werden unter diesen Bedingungen ebenfalls rapide abgebaut.

Die Verfütterung einer hochkalorischen, proteinarmen Diät bewirkt eine weitere Erhöhung von Blutglukose und Harnstoff-N bei gering verbesserter Überlebensrate, Protein- bzw. Glykogengehalt der Leber und der Skelettmuskulatur werden dabei nur wenig positiv beeinflußt.

Die zusätzliche Gabe von essentiellen Aminosäuren führt zu einer Senkung des Harnstoff-N und der Blutglukosewerte, ohne die Überlebensrate der Tiere günstig zu beeinflussen. Unter diesen Bedingungen gelingt eine deutliche Stimulierung der Leberglykogensynthetase, ein Effekt der am Skelettmuskel ausbleibt. Die Applikation von essentiellen Aminosäuren führt zu anabolen Effekten auf den Leber- und Muskelproteinstoffwechsel.

Die Substitution von Ketosäuren bewirkt bei akut urämischen Ratten eine signifikante Verlängerung der Überlebenszeit auf bis zu 90 Stunden nach Binephrektomie, verbunden mit einer deutlichen Senkung des Harnstoff-N, der Serumkaliumwerte und der Blutglukosekonzentration. Umgekehrt lassen sich unter diesen diätischen Bedingungen die höchsten Leber- und Muskelglykogenwerte ermitteln.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. Abel, R.M., Beck, C.H.jr., Abbott, W.H., Ryan, J.A. jr., Barnett, G.O., Fischer, J.E.:
Improved survival from acute renal failure after treatment with intravenous essential L-amino acids and glucose.
New Engl. J. Med. 288:695, 1973

2. Arnold, W.C., Holliday, M.A.:
Tissue resistance to insulin of amino acid uptake in acutely uremic rats.
Kidney Int. 16:124, 1979

3. Bergström, J., Hultman, E.:
Glycogen content of skeletal muscle in patients with renal failure.
Acta Med. Scand. 186:177, 1969

4. Bilbrey, G.L., Faloona, G.R., White, M.G., Knochel, J.P.:
Hyperglucagonemia of renal failure.
J. Clin. Invest. 53:841, 1974

5. Braun, L.:
Das akute Nierenversagen.
Ferdinand Enke-Verlag, Stuttgart, 218, 1968

6. Burns, J., Cresswell, E., Ell, S., Jackson, M., Lee, H.A., Richards, P., Rowlands, A., Talbot, S.:
Comparison of the effects of keto acid analogues and essential amino acids on nitrogen homeostasis in uremic patients on moderately protein-restricted diets.
Am. J. Clin. Nutr.31:1767, 1978

7. Campancci, L., Guarniere, G.F., Faccini, L., Bellini, G.:
Pyruvat tolerance test in chronic uremic patients.
Nephron 10:232, 1973

8. Chow, K.W., Walser, M.:
Substitution of five essential amino acids by their alpha-keto analogues in the diet of rats.
J. Nutr. 104:1208, 1974

9. Cohen, B.D.:
Abnormal carbohydrate metabolism in renal disease.
Ann. Int. Med. 57:204, 1962

10. Cummings, N.B., Zotter, S.M.:
Glucose and pyruvate metabolism in liver slices of chronically uremic patients.
Lancet 2:571, 1965

11. DeFronzo, R.A., Andres, R., Edgar, P., Walker, W.G.:
Carbohydrate metabolism in uremia: a review.
Medicine 52:469, 1973

12. Dzurik, R., Niederland, Tr., Cern Á Cek, P.:
Carbohydrate metabolism by rat liver slices incubated in serum obtained from uremic patients.
Clin. Sci. 37:409, 1969

13. Dzurik, Brixovà:
Liver glycogen concentration in patients with chronic uremia.
Exp. 24:552, 1968

14. Dzurik, R., Krajci-Lazany, B.:
The Effect of uremic serum on carbohydrate metabolism in rat diaphragma.
Ex. 23:798, 1967

15. Elsas, L.J., Pask, B.A., Wheeler, F.B., Per, D.P., Trusler, S.:
Syrup urine disease: cofaktor resistance.
Metabolism 21:929, 1972

16. Ferrannini, E., Pilo, A., Tuoni, M.:
The response to intravenous glucose of patients on maintenance hemodialysis: Effects of dialysis.
Metabolism 28:125, 1979

17. Ferrannini, E., Pilo, A., Navalesi, R., Citti, L.:
Insulin kinetics and glucose-induced insulin delivery in chronically dialyzed subjects: Acute effects of dialysis.
Clin. Endocrinol.Metab. 49:15, 1979

18. Frizzell, M., Larsen, P.R., Field, J.B.:
Spontaneous hypoglycemia associated with chronic renal failure.
Diabetes 22:493, 1973

19. Fröhlich, J., Schölmerich, J., Hoppe-Seyler, G., Maier, K.P., Talke, H., Schollmeyer, P., Gerok, W.:
The effect of acute uraemia on gluconeogenesis in isolated perfused rat livers.
Eur. J. Clin. Invest.4:453, 1974

20. Fröhlich, J., Hoppe-Seyler, G., Schollmeyer, P., Maier, K.P., Gerok, W.:
Possible sites of interaction of acute renal failure with amino acid utilization for gluconeogenesis in isolated perfused rat liver.
Eur. J. Clin. Invest.7:261, 1977

21. Gäng, V.:
Vitamin B6 requirements in chronic uremia.
In: Renal Insufficiency (Herausg. A. Heidland et al.)Thieme Verlag Stuttgart, 198, 1976

22. Galloway, R.E., Morgan, J.M.:
Serum pyruvat and lactate in uremia.
Metabolism 13:818, 1964

23. Garber, A.J., Bier, B.M., Cryer, P.E., Pagliara, A.S.:
Hypoglycemia in compensated chronic renal insufficiency: substrate limitation of gluconeogenesis.
Diabetes 23:882, 1974

24. Giordano, C., De Pascale, C., Phillips, M.E., De Santo, N.G., Fürst, P., Brown, C.L., Hinghton, B.J., Richards, P.:
Utilisation of ketoacid analogues of valin and phenylalanin in health and uremia.
Lancet 1:178, 1972

25. Giordano, C.:
Use of exogenous and endogenous urea for protein synthesis in normal and remic subjects.
J. Lab. Clin. Med. 62:231, 1963

26. Giovanetti, S., Cioni, L., Balestri, P.L., Giagini, M.:
Evidence that guanidines and some relatet compounds cause haemolysis in chronic uremia.
Clin. Sci. 34:142, 1968

27. Giovanetti, S., Maggiore, O.:
A low nitrogen diet with proteins of heigh biological value for severe chronic uremia.
Lancet 2:1000, 1964

28. Heidland, A., Kult, J., Röckel, A., Heidbreder, E.:
Evaluation of essential amino acids and keto acids in uremic patients on low-protein diet.
Am. J. Clin. Nutr. 31:1784, 1978

29. Heimsoth, V.:
Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel. In: Urämie (Herausgeber V. Gessler)
Aesopusverlag, 77, 1977

30. Hicks, J.M., Young, D.S.:
The effect of uremic blood constiuents on certain cerebral enzymes.
Clin. chim. Acta 9:228, 1964

31. Hörl, W.H., Heidland, A.:
Glycogen metabolism in muscle in uremia.
Am. J. Clin. Nutr. 33:1461, 1980

32. Holliday, M.A., Chantler, C., Mac Doumel, R., Keitges, J.:
Effect of uremia on nutritionally-induced variations in protein metabolism
Kidney Int. 11:236, 1977

33. Lacy, W.W.:
Uptake of individual amino acids by perfused rat liver: effect of acute uremia.
Am. J. Physiol. 219:649, 1970

34. Levin, M.A.:
Treatment of diabetes,
Exc. Med. III, 18:250, 1965

35. Lowry, N.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randell, R.J.:
Protein measurements with the folin phenol reagents.
J. Biol. Chem. 193: 265, 1951.

36. Merril, J.P., Legrain, M., Hoigne, R.:
Observations on the role of urea in uremia.
Am. J. Med. 14:519, 1953

37. Mondon, C.E., Dolkas, C.B., Reaven, G.M.:
The site of insulin resistance in acute uremia.
Diabetes 27:571, 1978

38. Montgomery, R.:
Determination of glycogen.
Arch. Biochem. Biophys. 67:378, 1957

39. Moxley, M.A., Bell, N.H., Wagle, S.R., Allen, D.C., Ashmore, J.:
Parathyroid hormone stimulation of glucose and urea production in isolated liver cells.
Am. J. Physiol. 227:1058, 1974

40. Peitzman, S.J., Agrarwal, B.N.:
Spontaneous hypoglycemia in end-stage renal failure.
Nephron 19:131, 1977

41. Piorry, P., Heritier, M.L.:
Traite des alterationes du sang.
Kap. 12, Paris 1840

42. Reaven, G.M., Weisinger, J.R., Swenson, R.S.:
Insulin and glucose metabolism in renal insufficiency.
Kidney Int. (Suppl. 1) 6:S63, 1974

43. Reaven, G.M., Reaven, P.D.:
Development of fasting hyperglycemia in uremic rats.
Metabolism 26:1251, 1977

44. Richards, P., Brown, C.L., Houghton, B.J., Thompson, E.:
Synthesis of phenylalanine and valine by health and uremic men.
Lancet 2:128, 1971

45. Rittmeyer, P.:
Klinische Probleme der parenteralen Ernährung
(Herausgeber: H. Beisbarth, K. Horatz, P. Rittmeyer)
Enke-Verlag, Stuttgart, 1973

46. Röckel, A., Roller, F., Kult, J., Heidland, A.:
Comparative studies of potatoe egg diet and mixed low protein diet combined with essential amino acids in patients with endstage renal failure.
In: Renal Insufficiency (Herausgeber: A. Heidland et al.)
Thiemeverlag, Stuttgart, 163, 1976

47. Rubenfeld, S., Garber, A.J.:
Abnormal carbohydrate metabolism in chronic renal failure.
J. Clin. Invest.62:20, 1978

48. Rutsky, E.A., Mc Daniel, H.G., Tharpe, D.L., Ginger, A., Pek, S.:
Spontaneous hypoglycemia in chronic renal failure.
Arch. Intern Med. 138:1364, 1978

49. Sampson, D., De Pasquale, J.L., Murphy, G.P.:
The Effect of Uremia on Renal Carbohydrate Metabolism.
Invest.Urol. 11:9, 1972

50. Sarre, H.:
Nierenkrankheiten.
Thiemeverlag Stuttgart, 203, 1976

51. Scribner, B.H., Fergus, E.B., Boen, S.T., Thomas, E.D.:
Some therapeutic approaches to chronic renal insufficiency.
Ann. Rev. Med. 16:285, 1965

52. Soman, V., Felig, P.:
Glucagon and insulin binding to liver membranes in a partially nephrectomized uremic rat model.
J. Clin. Invest.60:224, 1977

53. Spitz, J.M., Rubinstein, A.H., Bergsohn, I., Abrahams, C., Lowry, C
Carbohydrate metabolism in renal disease.
J. Med. 39:201, 1970

54. Sullivan, T.W., Bird, H.R.:
Effect of Quantity and source of Dietary Nitrogen on the Utilization of the Hydroxy Analogues of Methionin and Glycine by chicks.
J. Nutr. 62:143, 1957

55. Swenson, R.S.:
Effect of acut uremia on various aspects of carbohydrate metabolism in d
Kidney Int. 4:267, 1973

56. Teuscher, A., Feukhauser, S., Küffer, F.R.:
Untersuchungen zum Kohlenhydratstoffwechsel bei Niereninsuffizienz.
Klin. Wochenschr. 41:706, 1963

57. Thölen, H.E., Bigler:
Die Pathogenese des Urämiesyndroms.
Schweiz. med. Wschr. 94:65, 1964

58. Thomas, J.A., Schlender, K.K., Larner, J.:
A rapid filter paper assay for UDP-glucose-, glycogen-, glycosyltransferase, including on improved biosynthesis of UDP-^{14}C-glucose.
Anal. Biochem. 25:486, 1968

59. Tilghman, S.M., Hanson, R.W., Ballard, F.J.:
Hormonal regulation of phosphoenolpyruvate carboxykinase (GTP) in mammalian tissues. In: Hanson, R.W., Mehlman, M.A. (eds.) Gluconeogenesis: Its regulation in Mammalian Species. John Wiley & Sons. New York, London, Sydney, Toronto, p. 47, 1976

60. Walser, M.:
Ketoacids in the treatment of uremia.
Clin. Nephrol. 3:180, 1975

61. Walser, M., Coulter, A.W., Dighe, S., Crautz, Fr.:
The effect of keto-analogues of essential amino acids in severe chronic uremia.
J. Clin. Invest. 52:678, 1973

62. Walser, M.:
Ketoacids in the treatment of uremia.
Clin. Nephrol. 3:180, 1975

63. Walser, M.:
Principles of ketoacid therapy in uremia.
Am. J. Clin Nutr. 31:1756, 1978

64. Walser, M., Mitch, E.W.:
Utilisation of calcium-L-phenyllactate as a substitute for phenyalanine by uremic patients.
Metab. Clin. Exptl. 26:1041, 1977

65. Walser, M., Sapir, D.G., Mitch, E.W., Batshaw, M., Brusilow, S., Maddrea, W.C.:
Evidence for an anabolic action of essential amino acid analogues in Uremic and starvation.
Z. Ernährungsw. (Suppl) 19:5, 1976

66. Walser, M.:
Nutritional effects of nitrogen-free analogues of essential amino acids.
Life Sci. 17:1011, 1978

67. Westervelt, F.B.:
Abnormal carbohydrate metabolism in uremia.
J. Clin. Nutr. 21:423, 1968

68. Westervelt, F.B.:
Insulin effect in uremia.
J. Lab. Clin. Med. 74:79, 1969

69. Westervelt, F.B.:
Uremia and insulin response.
Arch. Int. Med. 126:865, 1970

Lebenslauf

Name:	Maximilian Link
Geburtstag und -ort:	18. Dezember 1954 in Schweinfurt
Eltern:	Vater: Dr. Max Link
	Mutter: Ilse Link, geb. Ott
Familienstand:	ledig
Heimatadresse:	Gabelsbergerstr. 7
	8720 Schweinfurt
Studienadresse:	Rottendorferstr. 25
	8700 Würzburg

Schulbildung:	1961 - 1965 Volksschule in Schweinfurt
	1965 - 1974 Celtis-Gymnasium in Schweinfurt, Abschluß Abitur, allg. Hochschulreife

Studium:	1974 Studium der Humanmedizin an der Universität Würzburg
	1976 Studium der Psychologie an der Universität Würzburg
	1980 Medizinisches Staatsexamen an der Universität Würzburg

Würzburg, den 18. Nov. 1980

Max Link